

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



TESIS DOCTORAL

***ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 y GDF5:
RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES
ROTADORES DEL HOMBRO EN UNA POBLACIÓN ATENDIDA EN UNA
MÚTUA DE ACCIDENTES DE TRABAJO Y ENFERMEDADES
PROFESIONALES***

SONIA VIDAL RODRÍGUEZ

Madrid, 2015

El trabajo presentado en esta memoria ha sido realizado en el Hospital Monográfico de Traumatología, Cirugía Ortopédica y Rehabilitación de ASEPEYO (Mutua de Accidentes de Trabajo y Enfermedades Profesionales nº 151 de la Seguridad Social), en Madrid, bajo la dirección y tutoría del Dr. José Cordero Ampuero (Doctor en Medicina y Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid), y en la Fundación para la Investigación Biomédica en Madrid. La realización del trabajo presentado ha sido posible gracias a la concesión de una beca FIS (Fondo de Investigación Sanitaria, nº de expediente: PI12/02327), concedida por el Instituto de Salud Carlos III a través de la Subdirección General de la Evaluación y Fomento de la Investigación del Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España. También a la concesión de una ayuda a la Investigación Médica de la Fundación Mutua Madrileña en su IX convocatoria.

AGRADECIMIENTOS

Muchas son las personas que merecen mi más profundo agradecimiento por acompañarme en el camino emprendido hasta llegar aquí y ahora. Sin ellos, no lo hubiera conseguido. Seguro. El destino es caprichoso; el tiempo avanza y nosotros con él, pero casi nunca conseguimos hacerlo al mismo. No entiende de códigos ni de costumbres. Los años han pasado y un día, en alguna parte, en algún lugar, logré indefectiblemente reencontrarme a mí misma frente a frente con la Medicina, sólo esa, fue la más feliz de mis horas.

En primer lugar, quiero agradecer al doctor José Cordero Ampuero el esfuerzo y tiempo dedicado a la dirección y tutoría de esta Tesis Doctoral. Le conocí siendo estudiante de la Facultad de Medicina de la UAM. Fue uno de los impulsores del programa de Doctorado en Aparato Locomotor, donde me contagió el interés por la Patología Infecciosa. Ese interés me llevó a mi primer proyecto de investigación que presenté como trabajo final en dicho Doctorado:

” Detección del Virus C de la Hepatitis en tejidos del Aparato Locomotor “.

Luego llegaron los polimorfismos genéticos. Gracias José, porque desde el primer momento confiaste en la viabilidad de esta Tesis Doctoral y en mi capacidad para llevarla a término. Es todo un privilegio haber contado contigo. De verdad, este trabajo es tuyo, gracias por todo. Siempre.

Al Instituto de Salud Carlos III y a la Fundación Mútua Madrileña por haberme considerado merecedora, a título personal, de una beca FIS y de una Ayuda a la Investigación Médica para desarrollar esta Tesis Doctoral.

Al Dr. Vicente Carreño, Inmaculada Castillo y Javier Bartolomé, gracias a los cuales descubrí el apasionante mundo de la Investigación Básica y han sido guías para alcanzar mis actuales conocimientos sobre técnicas de laboratorio y Biología Molecular. El interés por la Genética llegó a través de ellos, para quedarse y formar parte de mi perfil profesional. Son el motor de la Fundación de Investigaciones Biomédicas, sin cuya aportación logística no habría sido posible culminar esta Tesis Doctoral.

También a Ana mi más sincero agradecimiento, por estar siempre aquí, compartiendo y colaborando en todo con trabajo discreto pero permanente.

Al doctor Gerardo Conesa Bertrán, mi verdadero referente en Ciencia y Humanidad. Sus manos y confianza son las que, finalmente, me han permitido llegar hasta aquí. Gracias Gerardo, por ser un hombre de espíritu bueno, de manos y acciones generosas. Sin ti, nada sería lo mismo. Gracias de todo corazón.

A Maruchi y Cori, que día tras día, dedican tiempo y esperanza a vencer el silencio y la soledad de una cruel enfermedad. Gracias por embargarme de optimismo y energía positiva cuando más lo necesité.

A mi familia a quienes todo debo y para quienes las palabras quedan cortas por todo lo que merecen. A mi madre por su fuerza y apoyo incondicional. Gracias por quererme tanto y hacerme entender que hay un tiempo para dejar que

sucedan las cosas y un tiempo para hacer que las cosas sucedan. A mis abuelos de quienes aprendí el valor tanpreciado que supone crecer y educarse con cariño y en compañía.

A mi hermana melliza, Lys. Posiblemente, la persona que mejor me conoce, escucha y entiende. Gracias por iniciar el camino de la vida junto a mí.

Gracias a todo el personal del hospital de ASEPEYO en Madrid, por facilitarme el día a día, compaginando actividad asistencial con actividad investigadora.

Gracias a todos los pacientes que han participado en este estudio. Sin su colaboración, no hubiera sido posible. Los resultados de esta Tesis Doctoral son por y para ellos.

*A mi abuelo Bernardino por su entusiasmo y
esperanza*

ABREVIATURAS

- **A** : Adenina
- **AT**: Accidente de Trabajo
- **C** : Citosina
- **CCs**: Contingencias Comunes
- **ECO**: Ecografía
- **EF** : Esfuerzos físicos
- **EP** : Enfermedad Profesional
- **G** : Guanina
- **HTA** : Hipertensión arterial
- **MAT** : Mútua de accidentes de trabajo
- **MMSS**: Miembros superiores
- **RD** : Real Decreto
- **RMN**: Resonancia Magnética Nuclear.
- **RX**: Radiografía
- **SNPs** : Polimorfismos de un solo nucleótido
- **SS** : Seguridad Social
- **T** : Timina

ÍNDICE

1. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

| | |
|--|----|
| 1.1 Antecedentes históricos | 5 |
| 1.2 Anatomía y Función del manguito de los tendones rotadores del hombro | 8 |
| 1.3 Epidemiología de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro | 12 |
| 1.4 Cuadro clínico e historia natural de las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro | 15 |
| 1.5 Tratamiento de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro | 17 |
| 1.6 Colágeno. Tipos. Polimorfismos e implicaciones patológicas | |
| • 1.6.1. Gen Col1A1 | 22 |
| • 1.6.2. Gen Col5A1 | 23 |
| • 1.6.3 Gen GDF5 | 25 |

| | |
|--|----|
| <u>2. HIPÓTESIS DEL TRABAJO</u> | 27 |
|--|----|

| | |
|---------------------------|----|
| <u>3.OBJETIVOS</u> | 28 |
|---------------------------|----|

4.MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|-------------------------|----|
| 4.1. Diseño del estudio | 29 |
|-------------------------|----|

| | |
|---|----|
| 4.2 Pacientes: grupo de estudio y grupo control | 29 |
|---|----|

| | |
|------------------------------|----|
| 4.3 Localización del estudio | 30 |
|------------------------------|----|

| | |
|---|----|
| 4.4. Actividad profesional de los pacientes | 30 |
|---|----|

| | |
|----------------------------|----|
| 4.5 Antecedente traumático | 32 |
|----------------------------|----|

| | |
|-----------------------------|----|
| 4.6. Consideraciones Éticas | 33 |
|-----------------------------|----|

| | |
|---|----|
| 4.7. Criterios de inclusión y exclusión | 49 |
|---|----|

| | |
|--------------------------------|----|
| 4.8 Detección de polimorfismos | 50 |
|--------------------------------|----|

| | |
|--------------------------|----|
| 4.9 Análisis Estadístico | 53 |
|--------------------------|----|

5.RESULTADOS

| | |
|---|----|
| 5.1 Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio. Resultados estadísticos descriptivos | 55 |
| 5.2 Hallazgos de polimorfismos | 65 |
| 5.3 Comparación entre pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro y pacientes con lesiones en otras localizaciones anatómicas | 67 |
| 5.4 Estudio de frecuencias observadas en gen Col1A1, GDF5 y Col5A1 y frecuencias esperadas en los alelos de cada uno de los genes. Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg. Variables de agrupación : raza, sexo, tipo de actividad laboral y antecedentes patológicos familiares | 87 |

| | |
|----------------------------|-----|
| <u>6. DISCUSIÓN</u> | 121 |
|----------------------------|-----|

| | |
|------------------------------|-----|
| <u>7.CONCLUSIONES</u> | 144 |
|------------------------------|-----|

| | |
|------------------------------|-----|
| <u>8.BIBLIOGRAFÍA</u> | 146 |
|------------------------------|-----|

1.1 **Antecedentes históricos**

La primera referencia al manguito de los tendones rotadores del hombro la encontramos en la Mitología Griega, en el *Prefacio* con *Atlas o Atlantes*, joven titán al que Zeus condenó a cargar sobre sus hombros los pilares que mantenían la Tierra (Gea) separada de los cielos (Urano). Según el texto, la rotación de los hombros permitía el “movimiento rotacional” planetario. Entre los años 1508 a 1510 Leonardo da Vinci realizó sus célebres dibujos sobre articulaciones, músculos y esqueletos. En sus “*Estudios sobre el hombro y el cuello* ” (**Fig.1**) cada parte ósea o muscular quedaron representadas en, al menos, cinco ángulos distintos y a diversos niveles de profundidad. Dibujó una mano con modelos de hombre viejo, joven y niño; y en las ilustraciones de la espalda y el brazo fijó los movimientos de rotación en 180°.



Fig. 1 Thinking like Leonardo da Vinci and its implications for the modern doctor. BaumN.JMedPract Manage. 2013; 29(2):137

La primera descripción de una rotura del manguito de los tendones rotadores del hombro se debe a Smith en 1834 (1), en una serie de 7 roturas amplias de todo el manguito rotador y 2 roturas aisladas del subescapular y a las que atribuyó un origen traumático. El anatomista Meyer en 1931 (2) sostuvo la teoría de que tanto la rotura del manguito rotador del hombro como la de la porción larga del bíceps tenían su origen en el desgaste por sobreuso. Codman en 1934 (3) publicó una monografía fruto de 25 años de experiencia y consideró, al igual que Smith, la etiología traumática de estas lesiones.

Keyes en 1935 (4) encontró, en estudios post-mortem, hallazgos de procesos inflamatorios.

Olsson en 1953 (5) consideró que la curvatura de la cabeza humeral podía producir isquemia en el manguito rotador y en el bíceps. En 1963, Goldie y Moseley (6) demostraron la existencia de una “zona crítica” del tendón supraespinoso.

La hipótesis de un déficit en el aporte sanguíneo también fue propuesta por Macnab y Rathbun en 1970 (7), quienes realizaron los primeros estudios anatómo-patológicos de la microvascularización, encontrando áreas avasculares en la porción larga del bíceps braquial. Fue en 1972 cuando Charles Neer (8) describió por primera vez el síndrome de “impingement” como la causa determinante en la producción de las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Los posteriores estudios de Petersen y Bigliani en 1983 (9) sobre la forma anatómica del acromion y la superficie inferior de la articulación acromio-clavicular vinieron a confirmar la hipótesis planteada por Neer.

Lo cierto es que muchas son las hipótesis para explicar la etiología de las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro que tradicionalmente se han clasificado en “intrínsecas” y “extrínsecas”. La tendencia actual es a considerar una combinación de ambos factores como causa para estas lesiones. En los últimos años se han descrito asociaciones familiares en cuadros de tendinopatías de otras localizaciones anatómicas (10), lo cual nos haría suponer que la carga genética podría tener implicación en el desarrollo de lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

1.2. Anatomía y Función del Manguito de los Tendones Rotadores del Hombro

El manguito de los tendones rotadores del hombro tiene algunas peculiaridades que le convierten en una estructura de disposición compleja. Está formado por cuatro músculos distintos, separados desde el punto de vista superficial, pero con relación muy cercana unos con otros, en sus regiones más profundas, con la cápsula y con el tendón de la porción larga del bíceps braquial (11).

El músculo ***supraespinoso*** se encuentra en la parte superior de la escápula. Su origen pulposo se localiza en la fosa supraespinosa y la fascia que la cubre e inserta en el troquíter. Comparte inserción tendinosa con el infraespinoso en su parte posterior y con el ligamento coracohumeral en la cara anterior. Este músculo se ve implicado en cualquier movimiento que suponga elevación. El supraespinoso, junto con otros músculos accesorios, tales como el infraespinoso, el subescapular y el bíceps braquial, contribuye con el deltoides para la torsión durante la elevación en el plano escapular y para la elevación

anterógrada (11). El infraespinoso y el subescapular aportan más fuerza en sentido inferior sobre la cabeza del húmero para resistir la fuerza de desplazamiento del deltoides. El nervio supraescapular aporta inervación al supraespinoso (C5-C6). La arteria supraescapular es responsable de su irrigación.

A nivel de anatomía histológica podemos distinguir entre el tendón propio y la inserción de características fibrocartilaginosas. El tendón propio se extiende desde la unión músculo-tendinosa (5 cm medial al troquíter) hasta la inserción fibrocartilaginosa (2 cm) medial al troquíter. El tendón propio se agranda y ensancha hacia la inserción con un margen grueso anterior en forma de cuerda. Es lo que Burkhart (12) acuñó como “cuerda del manguito rotador “

(*Rotator cable de Burkhart*), que va afinándose en sentido posterior a modo de banda. Se denomina “área crítica” a aquella zona vulnerable por escaso aporte vascular. Es la zona de menor vascularización descrita por Codman, donde los desgarros ocurren con mayor frecuencia (3). El músculo supraespinoso y los tendones del bíceps presentan zonas críticas o “hipovasculares” a 10-15 mm proximales a la inserción del tendón del supraespinoso. Anatómicamente los vasos mantienen un recorrido paralelo a las fibras tendinosas, haciéndolas vulnerables al estiramiento y pudiendo quedar comprimidas por las estructuras subacromiales. Clark y Harryman (13) describieron esta zona como un área de anastomosis vascular que nutre conjuntamente el hueso y el tendón y que se encuentra comprometida en movimientos de abducción mayores de 30°. También encontraron que los vasos en la tercera capa del manguito son muy pequeños en comparación con los localizados en las capas más superficiales. El sentido de circulación del manguito es unidireccional, sin flujo transversal en

la inserción del supraespinoso. Brooks et al. (14) registraron 5 vasos por mm. en el tendón del supraespinoso en estudios de autopsias después de inyectar sulfato de bario. Encontraron unos 200 microvasos de media a 5, 10 y 15 mm de la cabeza del húmero y más de 300 a 30 mm de la zona de inserción con un calibre muy reducido, y demostraron que la densidad de la función capilar disminuía en las zonas adyacentes a las lesiones del manguito de los tendones rotadores.

El músculo **infraespinoso** se considera el segundo músculo más activo del manguito de los rotadores. Su origen se localiza en la fosa infraespinosa de la escápula, cubriendo una fascia densa y la espina escapular. Comparte la inserción tendinosa con el supraspinoso en las partes anterior y superior, y con el redondo menor a nivel del troquíter. El infraespinoso es uno de los principales rotadores externos del húmero, produciendo casi el 60% de la fuerza para la rotación externa . Está innervado por el nervio supraescapular e irrigado por dos ramas grandes de la arteria supraescapular.

El músculo **redondo menor** tiene su origen muscular en la porción media del borde lateral de la escápula y la fascia densa del infraespinoso. Se inserta en la porción inferior de la tuberosidad mayor del húmero.

Es responsable del 45% de la fuerza de rotación externa y participa también en la abducción junto a la porción inferior del subescapular. Se encuentra innervado por el nervio axilar, en su rama posterior e irrigado por ramas de la arteria circunfleja escapular humeral posterior.

El músculo **subescapular** constituye la porción anterior del manguito de los rotadores. Se origina en la fosa subescapular de la escápula e inserta en la tuberosidad menor del húmero. Funciona como rotador interno y estabilizador

pasivo. La irrigación proviene de las arterias axilares y subescapular. Su inervación es variable pero casi siempre es doble a través de los nervios subescapulares superiores (C5) y los subescapulares inferiores (C5-C6).

Casi todos los autores coinciden anatómicamente al considerar los tendones de los músculos supraespinoso, infraespinoso, y redondo menor como una unidad, contiguos, pero con estructuras distintas. El grosor varía entre 10 y 14 mm, dejando un borde normal (1,5 mm) de hueso expuesto entre el cartílago articular y la inserción del supraespinoso.

Una región importante de reconocer es el espacio denominado “intervalo de los rotadores” que se encuentra entre el borde inferior del supraespinoso y el borde superior del subescapular, dejando ver la cápsula articular y el ligamento coraco-humeral.

El ligamento coraco-humeral se origina en la región dorsolateral de la apófisis coracoides. Atraviesa el intervalo rotador anterior a la porción larga del bíceps y se funde con el ligamento glenohumeral superior. En su inserción se divide en dos bandas que se insertan en cada lado de la corredera bicipital, fundiéndose con las inserciones de los tendones subescapular y supraespinoso.

El manguito de los tendones rotadores del hombro es responsable de la estabilidad dinámica de la articulación del hombro, que mantiene la cinemática articular esferoidea en la posición adecuada. Es necesaria su integridad para conservar el amplio rango de movimiento del hombro, permitiendo pequeñas traslaciones.

1.3 Epidemiología y Etiología de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro.

Los cuadros patológicos que afectan al manguito de los tendones rotadores del hombro pueden abarcar pocas capas o a todas ellas, ser agudos o crónicos y traumáticos o degenerativos. Se pueden encontrar simples distensiones tendinosas leves, hasta la ausencia y rotura total de los tendones del manguito. En los pacientes más jóvenes, las lesiones parciales pueden incluir un pequeño arrancamiento óseo de las fibras más profundas del manguito. Este fragmento no debe confundirse nunca con una tendinitis calcificante (15). La alta prevalencia de las lesiones parciales del manguito sugiere que los trastornos a menudo diagnosticados de “tendinitis del manguito”, “bursitis” o “síndromes de compresión subacromial” representen en realidad la rotura de las fibras más profundas del manguito de los tendones rotadores del hombro (16).

Muchos estudios en cadáver han revelado datos dispares en cuanto a la incidencia de los defectos del manguito de los rotadores. Smith detectó una cifra del 18% (1), Yamanaka y cols. (17) del 7%. También Yamanaka describe la doble frecuencia de los desgarros parciales frente a las roturas del espesor completo. La incidencia en sujetos vivos es más difícil de estudiar (18), y más aún, la relación entre los desgarros del manguito con los síntomas clínicos. La prevalencia de roturas resulta compleja de determinar ya que estas no siempre son sintomáticas.

Petterson (19) realizó estudios de artrografía en 71 hombros asintomáticos aparentemente sanos, en sujetos de 15 a 85 años. Encontró que de 27

hombros asintomáticos, 13 tenían defectos parciales o totales del manguito y la mayor frecuencia se localizó entre los 70 y 75 años. Todos estos carecían de antecedentes traumáticos conocidos. La prevalencia aumenta de manera importante después de los 50 años de edad (20). La mayor parte de los autores asumen que “las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro son el acompañamiento natural del envejecimiento y a menudo aparecen en ausencia de síntomas clínicos” (18,20).

Algunos pacientes relacionan el comienzo con el tipo de actividad laboral desempeñada (21), como es el caso de trabajadores de almacenes, carpintería y pintura de brocha gorda. La incidencia de problemas en el hombro aumenta también con algunos tipos de actividades deportivas como deportes de lanzamiento, tenis, esquí y natación (22).

Se han identificado factores extrínsecos e intrínsecos que pueden influir en la etiología de las lesiones del manguito rotador. Dentro de los **factores extrínsecos** se pueden distinguir dos grandes grupos:

- Primarios o estructurales:
 - Estrechamiento anatómico del desfiladero del supraespinoso. Neer atribuye el 95% del total de las roturas del manguito a este mecanismo (8).
 - Traumáticos: Producidos como secuelas de fracturas de acromion, troquíter y coracoides (23)
 - Degenerativos: Por artrosis acromio-clavicular.
 - Variantes anatómicas constitucionales: Acromion tipo III, os acromial y coracoides (9,24)

- Inflamatorias: Cuadros de bursitis subacromial.
- Iatrogénicas, por inadecuada posición, por ejemplo, de implantes glenohumerales.
- Secundarios o funcionales:
 - Inestabilidades y laxitud capsular
 - Disfunción neuromuscular escápulo-torácica: Espondilosis cervical, parálisis musculares escápulo-torácicas.

Dentro de los **factores intrínsecos** cabe destacar las alteraciones microestructurales que pueden producirse en la vascularización del manguito y que se ve disminuida por la edad y de forma transitoria con ciertos movimientos y actividades (21, 22). Se consideran también como factores intrínsecos las calcificaciones intratendinosas, las posible tendinopatías por el uso de corticoides, las lesiones del nervio supraescapular y las radiculopatías C5-C6. Sin embargo, la etiología subyacente a estas lesiones o factores intrínsecos no está bien establecida (25). Los resultados obtenidos en estudios de asociación en familiares sugieren que puede existir un componente genético asociado (10).

1.4 Cuadro Clínico e Historia Natural de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro.

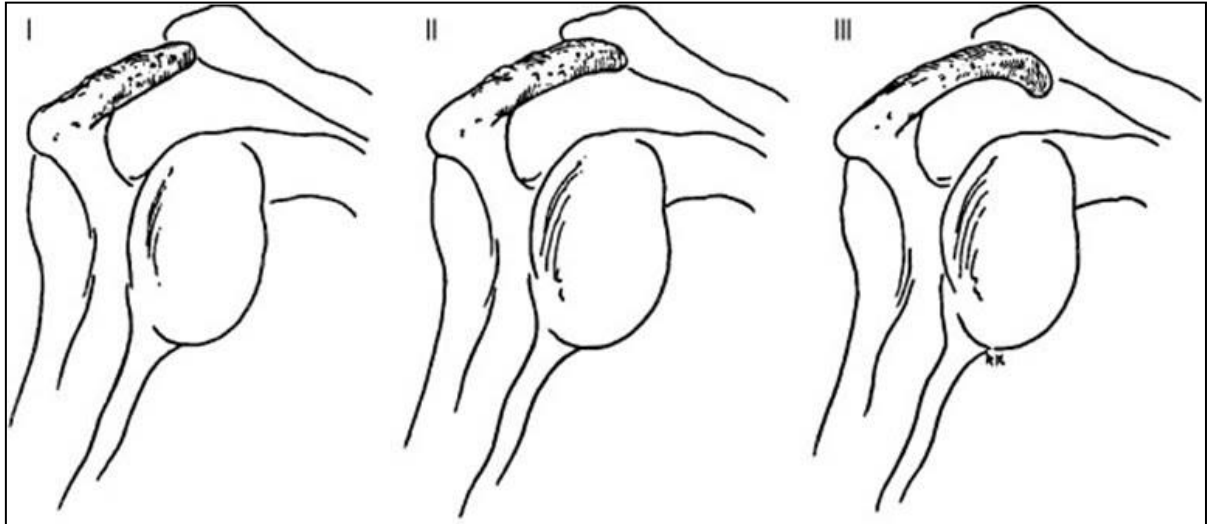
Si algo es característico en las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro es la enorme variabilidad en sus manifestaciones clínicas (24,26)

Se pueden resumir en cuatro fundamentales:

- Rigidez de hombro. Se asocia a limitación del arco de movimiento normal, activo y pasivo, y dolor con dificultad para conciliar el sueño.
- Sensación de pérdida de fuerza, producida por la aparición de dolor con la contracción muscular en el contexto de fibras tendinosas debilitadas.
- Inestabilidad, debida a la incapacidad para mantener la cabeza humeral centrada en la glena.
- Rugosidad, que corresponde a una crepitación sintomática durante el movimiento glenohumeral, por hipertrofia bursal. La artropatía por desgarro del manguito de los rotadores es otra causa de rugosidad, por pérdida de la superficie articular.

Además de una cuidadosa exploración clínica, las lesiones del manguito rotador se pueden diagnosticar con técnicas por imagen. La radiografía simple es de escasa utilidad salvo que existan pequeños fragmentos óseos desprendidos del troquíter, esclerosis subacromial y desplazamiento importante de la cabeza del húmero. Los osteofitos de la articulación acromioclavicular pueden penetrar en el espacio reservado para los tendones del manguito. El acromion es la apófisis escapular más estudiada (27,28). La compresión de la cabeza humeral y el arco coracoacromial se produce en una región anatómica denominada *orificio de salida del supraespinoso* (29). Bigliani y cols. (30)

definieron tres tipos de acromion en función de su forma y correlacionando la patología del manguito de los rotadores en estudios en cadáveres con las radiografías en la región del orificio de salida del supraespinoso.



. El tipo I tiene una superficie plana y produce menos alteraciones en el orificio de salida del supraespinoso. El tipo III, también denominado tipo de gancho, es responsable de un mayor índice de lesiones de manguito por una interrupción repentina del espacio de salida tendinoso.

La artrografía simple con inyección de material radiopaco ha caído en desuso. Sólo algunos autores abogan por su utilidad, asociada a la tomografía computarizada, para valorar la extensión del desgarró y determinar si es reparable o no (31).

La resonancia magnética nuclear (RMN) permite obtener datos de tendones y músculos, así como la presencia de atrofia y de infiltración grasa en casos de mal pronóstico funcional. La ecografía es un método útil no invasivo y no radiográfico para evaluar la integridad del manguito de los rotadores y del tendón del bíceps braquial.

1.5 Tratamiento de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro

El tratamiento de las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro varía en relación a la clínica y al grado de lesión detectado (32). En los casos de rigidez de hombro con tensión capsular posterior se recomienda iniciar tratamiento con rehabilitación y fisioterapia que puede prolongarse hasta 2-3 meses, antes de pensar en una liberación capsular y descompresión subacromial con acromioplastia vía artroscópica o por cirugía abierta. Después de cualquier tipo de cirugía subacromial se necesita un buen programa rehabilitador precoz para evitar la formación de adherencias. Lo cierto es que cada vez resulta más controvertido el comienzo del tratamiento rehabilitador en el postoperatorio inmediato. No se han encontrado diferencias significativas en el resultado funcional de los pacientes que permanecen inmovilizados durante 6 semanas, y aquellos que comienzan con movilizaciones pasivas inmediatamente después de la reparación artroscópica de roturas de manguito rotador, en pacientes por debajo de los 65 años (33,34).

En las lesiones parciales del manguito, al igual que en las lesiones parciales de cualquier otro tipo de tendón, se opta por comenzar por un tratamiento conservador, basado en rehabilitación guiada, progresiva y personalizada. El tratamiento quirúrgico (35) tiene como prioridad intentar asegurar que la carga tendinosa se distribuya de manera uniforme en el punto de inserción, mediante la realización de una reparación isométrica.

En el caso de los defectos completos del manguito de los tendones rotadores

se incluyen multitud de técnicas quirúrgicas que abarcan la modalidad tendino-tendinosa y el avance tendinoso hasta el hueso. Los desgarros persistentes o recurrentes del manguito de los rotadores alcanzan una incidencia dispar del 12% al 90% de los casos (36).

Las roturas masivas o recurrentes son susceptibles de algunas técnicas quirúrgicas. Entre ellas se incluyen el desbridamiento artroscópico, asociado a tenotomía de la porción larga del bíceps braquial (37), las transferencias tendinosas como la transferencia del músculo dorsal ancho en defectos aislados postero-superiores del manguito. La artroplastia de hombro, con una prótesis invertida, es una opción válida en pacientes con rotura masiva del manguito de los tendones rotadores y con artropatía por ascenso de la cabeza humeral (38). También se han utilizado aloinjertos o matrices de colágeno, humano o porcino, para cubrir defectos irreparables del manguito (39,40).

1.6 Colágenos. Tipos. Polimorfismos e Implicaciones Patológicas.

El colágeno es una proteína insoluble y fibrosa compuesta por tres cadenas que forman una triple hélice. El colágeno es el paradigma de las proteínas estructurales. Los colágenos son componentes fundamentales de la matriz extracelular en los tejidos conectivos por lo que juegan un papel muy importante en la arquitectura e integridad tisulares y en las interacciones entre las células.

Cada una de sus cadenas tiene unos 1.400 aminoácidos de los cuales uno de cada tres es una glicina. (G). A intervalos regulares se intercalan otros aminoácidos, la prolina (P) y la hidroxiprolina, cuya presencia es poco frecuente

en otras proteínas. La presencia de estos aminoácidos particulares permite que las tres cadenas se enrollen entre sí, formando una fibra muy resistente (**Fig.2**). Este arrollamiento permite que mecánicamente se comporte de modo idéntico al trenzado de los cables o las cuerdas, aumentando enormemente su resistencia a la tracción. Aquellos tejidos con una matriz extracelular abundante en colágeno (tejidos óseo, tendinoso, ligamentoso) poseerán una función predominantemente estructural (40). Además, entre las cadenas se establecen puentes de hidrógeno que confieren al colágeno una gran estabilidad. Su importancia y función se comprueba por la alta presencia en los diversos tejidos del organismo: supone el 4% del tejido hepático, el 10% del tejido pulmonar, el 50% del cartílago y casi el 70% de la piel, alcanzando el 90% del componente orgánico de la matriz extracelular ósea, y más del 95% de la matriz extracelular de tendones y ligamentos. Se conocen al menos 12 tipos de colágeno, numerados del I al XII (40,41).

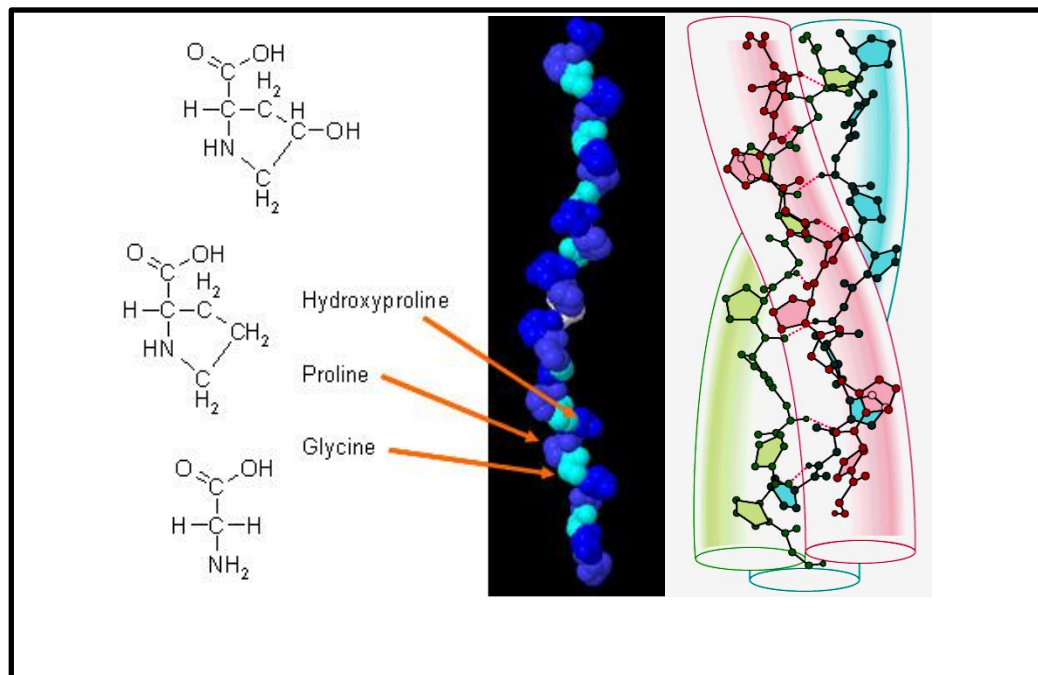


Fig.2 Triple hélice de colágeno Garre`, R.H. and Grisham, C.M. *Biochemistry*.2.ed.Saunders College Publishing. 1999.

El término de polimorfismo queda definido (Fernández Piqueras, 2001), desde la vigésima primera edición del Diccionario de la Lengua Española en 1992 como la *“propiedad de los cuerpos que puede cambiar de forma sin variar su naturaleza”*. En su acepción bioquímica se establece: *“Dícese de las enzimas o proteínas que se presentan bajo varias formas moleculares. Es un fenómeno importante en la genética y en la patología molecular”*. Ya Ford en 1940 definió el polimorfismo de una población como *“la ocurrencia en un mismo ambiente de dos o más formas discontinuas de una especie, en proporciones tales que la más rara de ellas no pueda ser mantenida en la población simplemente por mutación recurrente”*. Así (Fernández Piqueras), un polimorfismo genético, aunque sea estimado a través de una pluralidad de formas fenotípicas, se podría definir como un carácter mendeliano (monogénico) que se presenta al menos bajo dos formas alternativas en una población. Su mantenimiento no puede depender de la recurrencia de una mutación. Se podría considerar la presencia de polimorfismos cromosómicos o de alteraciones en la secuencia del DNA, en las que ninguna de las variantes alélicas (los alelos son formas alternativas de un gen que se hallan en el mismo locus de cromosomas homólogos) tiene una frecuencia inferior al 1%. El primer polimorfismo descrito en la especie humana fue el descubrimiento del grupo sanguíneo ABO (Landsteiner, 1900). Durante 50 años, todos los polimorfismos descritos quedaron referidos a diversos antígenos de superficie en los glóbulos rojos.

La tecnología del DNA recombinante ha permitido la identificación de marcadores genéticos mediante el análisis directo de las propias moléculas de

DNA (42).

De manera básica podemos decir que existen dos tipos de polimorfismos que derivan de la sustitución de un nucleótido por otro y los que derivan de la inserción o delección de secuencias de DNA entre los que también encontramos las repeticiones de secuencias de dos o más nucleótidos.

1. Polimorfismo de un nucleótido único o SNP (*single nucleotide polymorphism*), que representa una variación en un único nucleótido. Si este cambio se produce en el sitio de restricción de una enzima, hablamos de polimorfismos de restricción o RFLP (*restriction fragment length polymorphisms* –polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción). En la presente Tesis Doctoral se analizan polimorfismos de un nucleótido único o SNP en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5.
2. Polimorfismos de repetición, o VNTRs (*variable number of tandem repeats*- repeticiones en tándem de número variable) Entre ellos podemos definir dos tipos diferentes:
 - a. Minisatélites. Son secuencias de DNA de unas pocas decenas de nucleótidos repetidas en tándem y el número de estas repeticiones puede variar de cromosoma a cromosoma. En ellos, para cada *locus* pueden observarse muchas variantes alélicas, sin embargo presentan el inconveniente de no estar distribuidos por todo el genoma. En la práctica médica se suelen aplicar en la determinación de la paternidad y protocolos de identificación genética en el ámbito judicial.
 - b. Microsatélites. Son repeticiones cortas en tándem de secuencias de entre 2 y 5 nucleótidos, y tradicionalmente usados en el

diagnóstico genético. Están distribuidos casi de manera homogénea por todo el genoma y presentan alta tasa de heterocigosidad por tener un número elevado de variantes alélicas con frecuencias similares entre sí.

1.6.1 Colágeno tipo I. Gen COL1A1.

El colágeno tipo I se encuentra abundantemente en la dermis, hueso, tendón, dentina y córnea y, además, es el más importante desde el punto de vista estructural. Es sintetizado por fibroblastos, condroblastos y osteoblastos y es de estructura fibrilar. El colágeno tipo I está codificado por los genes COL1A1 y COL1A2. Diversas mutaciones en estos genes son responsables de casi el 90% de todos los casos de osteogénesis imperfecta (43), y se relacionan directamente con la enfermedad de Caffey (hiperostosis cortical infantil), y el dermatofibrosarcoma protuberans (44).

El gen COL1A1 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17 entre las posiciones 21.3 y 22.1. En el promotor del gen COL1A1 se ha descrito un polimorfismo que consiste en el cambio de una guanina (G) por una timina (T) y que está asociado con la probabilidad de sufrir lesiones en tendones y ligamentos (45). Así, las personas homocigotas para el alelo T (T-T) tienen una menor probabilidad, hasta un 85% menos, de sufrir lesiones durante la práctica deportiva tanto en el ligamento cruzado anterior de la rodilla como en el tendón de Aquiles, que las personas heterocigotas (T-G) o las homocigotas para el alelo G (G-G).

Una variación particular en el gen COL1A1 parece aumentar el riesgo en mujeres de desarrollar osteoporosis (46).

Existen, pues, tres combinaciones posibles:

- **Homocigoto T-T:** En las personas con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior de la rodilla y en el tendón de Aquiles durante la práctica deportiva es un 85% menor que en la población general.
- **Heterocigoto T-G u Homocigoto G-G:** En las personas con estos genotipos, la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior y en el tendón de Aquiles durante la práctica deportiva es la misma que la de la población general.

1.6.2 Colágeno tipo V. Gen COL5A1.

El colágeno tipo V suele aparecer específicamente localizado en las membranas basales, separando generalmente los epitelios de los tejidos conjuntivos. Predomina en la pared de los vasos sanguíneos y es clara su relación con las lesiones arterioescleróticas (47). El gen COL5A1 codifica la cadena alfa-1 del colágeno tipo V, que representa alrededor del 10% del colágeno total presente en tendones y ligamentos. En la región 3' no codificante de este gen se ha descrito un polimorfismo que consiste en el cambio de una citosina (C) por una timina (T) que está asociada a la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior de la rodilla o en el tendón de Aquiles. (48,49). En las personas homocigotas para el alelo C (C-C), la probabilidad de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles o en el ligamento cruzado anterior de la rodilla, durante la práctica deportiva, es un 60% menor que en el resto de la población. Las mujeres deportistas con los genotipos C-T

o T-T tienen 2 veces más riesgo de rotura del ligamento cruzado anterior de la rodilla que el resto de la población. Las posibles combinaciones son:

- **Homocigoto C-C:** En las personas (mujeres y hombres) con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior y en el tendón de Aquiles durante la práctica deportiva es un 60% menor que en la población general (49).
- **Heterocigoto C-T:** En los varones con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior y en el tendón de Aquiles durante la práctica deportiva es la misma que la de la población general. En las mujeres con este genotipo aunque el riesgo de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles es el mismo que el de la población general, presentan 2 veces más riesgo de sufrir roturas en el ligamento cruzado anterior durante la práctica deportiva.
- **Homocigoto T-T:** En los varones con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el ligamento cruzado anterior o en el tendón de Aquiles durante la práctica deportiva es la misma que la de la población general. En las mujeres con este genotipo aunque el riesgo de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles es el mismo que el de la población general, presentan 2 veces más riesgo de sufrir roturas en el ligamento cruzado anterior durante la práctica deportiva.

1.6.3 Gen GDF5

El gen GDF5 codifica una proteína denominada factor-5 de crecimiento/diferenciación que está implicada de manera activa en el desarrollo, mantenimiento y reparación de huesos, cartílagos y tendones (50,51). Es una proteína estrechamente relacionada con la familia de la proteína morfogenética ósea (BMP) y es un miembro de la superfamilia de TGF-beta.

Las mutaciones en este gen están asociadas con displasia acromesomélica, tipo Hunter-Thompson; braquidactilia, tipo C, y condrodisplasia, tipo Grebe (52,53). Estas asociaciones confirman que el producto del gen desempeña un papel en el desarrollo del esqueleto. La superfamilia de TGF-beta también se expresa en el sistema nervioso central en desarrollo, aumentando la supervivencia de las neuronas que responden al neurotransmisor llamado dopamina, que es una potencial molécula terapéutica asociada a la enfermedad de Parkinson. De todo ello se desprende la importancia de GDF5 en el desarrollo del sistema óseo y neuromuscular. En el promotor de este gen se ha descrito un polimorfismo que consiste en el cambio de una citosina (C) por una timina (T) que está asociado al riesgo de padecer lesiones en el tendón de Aquiles. Las personas homocigotas para el alelo T (T-T) tienen 2 veces más riesgo de sufrir lesiones, tanto crónicas como agudas (roturas), en el tendón de Aquiles (50)

Las tres posibles combinaciones son:

- **Homocigoto T-T:** Las personas con este genotipo tienen 2 veces más riesgo de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles que el resto de la población.
- **Heterocigoto T-C:** En las personas con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles es la misma que la de la población general.
- **Homocigoto C-C:** En las personas con este genotipo, la probabilidad de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles es la misma que la de la población general.

2. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

Teniendo en cuenta que los polimorfismos en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5 afectan tanto a la composición como al mantenimiento y reparación de ligamentos y tendones, puede especularse que también puedan estar relacionados con la probabilidad de sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

El conocimiento de la historia natural y de la evolución de cualquier enfermedad ya en los estadios más iniciales, así como la reducción de la incertidumbre en la toma de decisiones, al basarse en el conocimiento contrastado, sirven para emprender acciones terapéuticas y sanitarias que modifiquen la evolución de la enfermedad hacia estadios más benignos y favorables. Este proyecto puede aportar luz y ayudar a perfilar mejor la clasificación de un caso concreto, si se demuestra la importancia pronóstica de parámetros hasta ahora no estudiados, además de la actuación médica contemporánea. De especial importancia es la identificación de aquellos pacientes cuyo resultado se prevé insatisfactorio con objeto de evitar iatrogenia, morbilidad y/o maniobras innecesarias y la consiguiente sobrecarga asistencial y sus costes económicos y laborales.

3. OBJETIVOS

Los objetivos de la presente Tesis Doctoral fueron:

1. Estudiar el perfil genético en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5 en pacientes diagnosticados de lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro y atendidos en una Mutua de Accidentes Laborales y analizar la posible relación entre los polimorfismos en dichos genes y el riesgo de padecer lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro.
2. Estudiar la posible relación de variables clínicas y epidemiológicas con la lesión en el manguito rotador del hombro en la muestra poblacional analizada.
3. Comparar el perfil genético en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5 en pacientes con lesiones osteotendinosas en cualquier otra localización anatómica que no sea el hombro, con el perfil genético de pacientes con lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

El estudio objeto de la presente Tesis Doctoral se diseñó como un estudio observacional analítico tipo caso-control siendo de dos años la duración del período de inclusión (2012-2014).

4.2 Pacientes: grupo de estudio y grupo control

En este tiempo se ha incluido una muestra total de 207 pacientes, con 103 casos prevalentes diagnosticados de patología en el manguito de los tendones rotadores del hombro, en brazo dominante, y 104 pacientes sin lesión tendinosa de manguito, de ambos sexos (166 varones y 41 mujeres).

Todos los pacientes fueron evaluados a través de la escala de Constant modificada, que excluye la medición de la fuerza, y cuya puntuación máxima es de 75 puntos. Todos los pacientes del grupo de estudio presentaban lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro de su brazo dominante.

Los pacientes del grupo control fueron sujetos emparejados por edad y sexo, atendidos en el mismo Centro Hospitalario por otras lesiones osteotendinosas causadas por traumatismos o accidentes no deportivos en cualquier otra localización anatómica. En el estudio no se ha incluido ningún paciente atendido en la Mutua por derivación de un proceso de Contingencias Comunes (CCs) (es decir, todas aquellas situaciones en las que la Incapacidad Temporal se produce por causa de un accidente o enfermedad no laboral y que recibe asistencia sanitaria por parte del Sistema Público de Salud).

4.3 Localización del estudio

Los pacientes fueron atendidos en el Hospital Monográfico de Traumatología, Cirugía Ortopédica y Rehabilitación de Asepeyo (M.A.T. y E.P. nº 151-SS) en Coslada-Madrid y las muestras obtenidas fueron analizadas en la Fundación de Investigaciones Biomédicas en Las Rozas, Madrid.

4.4. Actividad profesional de los pacientes

Se tomaron como variables de estudio datos demográficos, datos clínicos y datos epidemiológicos procedentes de la historia clínica y la historia laboral, así como otros factores de riesgo, entre los que se valoran el perfil genético. Todos los pacientes incluidos en el estudio, tanto casos como controles, desarrollaban actividades laborales en puestos de trabajo con riesgo para las lesiones del hombro, tal como establece la legislación (RD 1299/2006 de 10 de Noviembre): usuarios de pantallas de visualización de datos (PVD), pintores, servicios de limpieza, conductores de vehículos, trabajadores de la construcción y servicios, peonajes, manipulador de pesos, fontanería y calefacción, carpinteros, mecánicos, archivos y almacenes, y trabajadores de la industria textil y confección. De esta manera quedaron establecidos tres grupos en función de la actividad laboral y el esfuerzo físico para miembros superiores, que implica cada uno de ellos:

- **Esfuerzos físicos intensos**: Peluquería, mecánicos, camareros, conductores, limpieza, construcción.
- **Esfuerzos físicos moderados**: Administración.
- **Esfuerzos leves** : Cargos Directivos, sin función administrativa y con actividad de supervisión.

Actividad profesional de los pacientes

| | CASOS | 103 | CONTROLES | 104 |
|--------------|-------|-----|-----------|-----|
| Peluqueria | | 0 | | 2 |
| Mecánicos | | 15 | | 9 |
| Camareros | | 4 | | 3 |
| Conductores | | 25 | | 12 |
| Limpieza | | 9 | | 9 |
| Construccion | | 30 | | 28 |
| Administrac. | | 20 | | 36 |
| Dirección | | 0 | | 5 |

4.5 Antecedente traumático

El tipo de antecedente traumático se tipificó en categorías, numeradas de **1** a

14:

- 1.- Rotura de ligamento cruzado anterior de rodilla**
- 2.- Rotura de menisco de rodilla**
- 3.- Rotura de tendón de bíceps**
- 4.- Rotura de tendones extensores de dedos mano**
- 5.- Rotura de tendones flexores dedos mano**
- 6.- Esfuerzo físico cogiendo peso**
- 7.- Esfuerzo físico tras tracción brusca sobre miembros superiores**
- 8.- Esfuerzo físico tra quedarse colgado sobre miembros superiores.**
- 9.- El paciente no refiere traumatismo previo.**
- 10.- Epicondilitis-epitrocleitis**
- 11.-Luxación codo, rotura ligamento colateral**
- 12.-Rotura tendón coracobraquial**
- 13.-Rotura ligamento escafo-lunar.**
- 14.- Fractura de húmero**

En el grupo control, entre los pacientes con roturas de ligamento cruzado anterior, sólo han quedado incluidos aquellos con una clara etiología traumática previa, tales como torsiones bruscas de rodilla y golpes directos. Todos los pacientes con rotura de LCA incluidos habían sido sometidos a intervención quirúrgica y en el procedimiento artroscópico se descartó, in situ, la imagen degenerativa del ligamento. Se incluyeron también en el grupo control pacientes con roturas meniscales siguiendo el mismo procedimiento: se escogieron solamente aquellos pacientes intervenidos de meniscectomía sin signos artroscópicos degenerativos. Se incluyó un paciente con rotura de tendón distal de bíceps braquial tras un traumatismo agudo. Se incluyeron también, en el grupo control, pacientes con roturas de tendones extensores y flexores de los dedos de la mano y todos ellos asociaban algún proceso

traumático tales como fracturas de falanges, fracturas de metacarpianos o fracturas de radio distal. En los pacientes incluidos con epicondilitis y epitrocleítis se aseguraba que sus cuadros clínicos fueran catalogados como enfermedades profesionales. En un paciente con luxación traumática de codo y en otros dos con fracturas diafisarias de húmero, la valoración clínica y toma de muestra se llevó a cabo tras la resolución completa de sus procesos patológicos, habiendo recibido ya el alta laboral por curación, y no existiendo, por tanto, ningún factor que pudiera producir sintomatología dolorosa en el hombro. El mismo procedimiento se siguió con un paciente con rotura traumática de tendón coracobraquial y otro paciente con rotura de ligamento escafo-lunar del carpo, asociada a fractura de radio distal.

4.6. Consideraciones Éticas:

Todos los pacientes incluidos fueron informados adecuadamente de forma verbal y por escrito haciéndose entrega de una hoja de información para el paciente, y se les solicitó su participación y la firma de un consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación Clínica del Hospital Universitario de la Princesa, en Madrid.

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se han obtenido han sido los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparece el nombre del paciente y la información personal e identidad no ha sido revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio. Cualquier información de carácter personal que pudiera ser identificable se conservó por métodos informáticos en condiciones de seguridad por hospital ASEPEYO de

Coslada y la Fundación de Investigaciones Biomédicas.

Las muestras han sido tratadas conforme a lo dispuesto en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica.

HOJAS DE INFORMACIÓN AL PACIENTE – GRUPO CASOS

Proyecto de investigación titulado: **ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 Y GDF5: RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES ROTADORES DEL HOMBRO**

Investigador principal Dr./a. *Sonia Vidal Rodríguez Col.55774*

Servicio: *Equipo de Patología del Miembro Superior- Traumatología*

Promotor : *Hospital ASEPEYO - Coslada*

Objetivos:

Le solicitamos su participación en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer en el desarrollo de lesiones en el manguito de los rotadores del hombro, que repercute en una disminución de la calidad de vida de las personas afectadas.

Beneficios:

Es posible que de su participación en este estudio no se obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de posibles factores relacionados con la patología del manguito de los rotadores del hombro, podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la sufren y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

El ADN es un elemento que está presente en todas sus células, porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de “genes” que determina sus características físicas personales, como el color de ojos, de piel, etc. Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas desarrollan unas enfermedades y otras no.

Procedimientos del estudio:

Si decide participar, se le realizará una historia clínica y una exploración física detallada y se le realizará una toma de muestra de sangre mediante un pinchazo en la yema de un dedo con una lanceta estéril desechable y se depositará una gota de sangre en una tarjeta de toma de muestras.

Molestias y posibles riesgos:

La toma de muestras le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la lanceta en la piel y ocasionar un pequeño hematoma que desaparece en pocos días.

Lugar de realización del análisis:

Su ADN se analizará en el laboratorio de la Fundación de Investigaciones Biomédicas, ubicado en Pollensa 2, 28230, Las Rozas (Madrid).

Protección de datos personales:

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines

del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal. Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por hospital ASEPEYO Coslada y Fundación de Investigaciones Biomédicas, o por una institución designada por ellos.

Las muestras serán tratadas conforme a lo dispuesto en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica.

El acceso a dicha información quedará restringido al personal designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio.

Implicaciones de la información obtenida en el estudio:

De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos genéticos que se obtengan en el curso del estudio.

En el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Derecho de revocación del consentimiento:

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que necesite y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.

Si cambia de opinión después de dar la muestra para el estudio genético, puede pedir que se destruya su muestra de ADN. Sin embargo, una vez se haya destruido este vínculo que une la muestra de ADN con su identificación, no será posible encontrar su muestra y, por lo tanto, no podrá destruirse.

HOJAS DE INFORMACIÓN AL PACIENTE – GRUPO CONTROL

Proyecto de investigación titulado: **ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 Y GDF5: RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES ROTADORES DEL HOMBRO**

Investigador principal Dr./a. *Sonia Vidal Rodríguez. Col55774*

Servicio: *Equipo de Patología del Miembro Superior- Traumatología*

Promotor: *Hospital ASEPEYO - Coslada*

Objetivos:

Le solicitamos su participación, como **sujeto control**, en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer en el desarrollo de lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, que repercute en una disminución de la calidad de vida de las personas afectadas. El estudio de investigación está diseñado como un estudio observacional analítico tipo caso-control. Quedan definidos como casos: Sujetos con lesiones que afecten al manguito de los tendones rotadores del hombro. **Controles: Sujetos emparejados por edad y sexo, atendidos por lesiones osteotendinosas en cualquier otra localización anatómica.**

Beneficios:

Es posible que de su participación en este estudio no se obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de posibles factores relacionados con la patología del manguito de los tendones rotadores del hombro, podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la sufren y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

El ADN es un elemento que está presente en todas sus células, porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de “genes” que determina sus características físicas personales, como el color de ojos, de piel, etc. Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas desarrollan unas enfermedades y otras no.

Procedimientos del estudio:

Si decide participar, se le realizará una historia clínica y una exploración física detallada y se le realizará una toma de muestra de sangre mediante un pinchazo en la yema de un dedo con una lanceta estéril desechable y se depositará una gota de sangre en una tarjeta de toma de muestras.

Molestias y posibles riesgos:

La toma de muestras le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la lanceta en la piel y ocasionar un pequeño hematoma que desaparece en pocos días.

Lugar de realización del análisis:

Su ADN se analizará en el laboratorio de la Fundación de Investigaciones Biomédicas, ubicado en Pollensa 2, 28230, Las Rozas (Madrid).

Protección de datos personales:

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal. Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por hospital ASEPEYO Coslada y Fundación de Investigaciones Biomédicas, o por una institución designada por ellos.

Las muestras serán tratadas conforme a lo dispuesto en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica.

El acceso a dicha información quedará restringido al personal designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio.

Implicaciones de la información obtenida en el estudio:

De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos genéticos que se obtengan en el curso del estudio.

En el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Derecho de revocación del consentimiento:

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que necesite y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.

Si cambia de opinión después de dar la muestra para el estudio genético, puede pedir que se destruya su muestra de ADN. Sin embargo, una vez se haya destruido este vínculo que une la muestra de ADN con su identificación, no será posible encontrar su muestra y, por lo tanto, no podrá destruirse.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ANÁLISIS DE
POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 y GDF5: RELACIÓN
CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES ROTADORES DEL
HOMBRO.**

Las lesiones en el manguito de los rotadores son la causa más frecuente de lesiones tendinosas en el hombro. No se conoce exactamente cuál es la causa de que en personas con la misma actividad se produzca o no esta lesión. Este hecho podría deberse a la existencia de variantes en los genes denominados Col1A1, Col5A1 y GDF5 que fueran responsables de la aparición o no de la lesión. El proyecto de investigación “**ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 y GDF5: RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES ROTADORES DEL HOMBRO**” pretende estudiar este aspecto.

Por ello le pedimos autorización para extraerle unas gotas de sangre y así poder determinar las variantes de los genes mencionados.

PROCEDIMIENTOS

Para extraerle las gotas de sangre, se le pinchará en la yema de un dedo con una lanceta estéril y desechable y las gotas de sangre se depositarán en una tarjeta especial. Este procedimiento no tiene ningún riesgo y a lo sumo puede sentir un ligero dolor en el momento del pinchazo. La aceptación para participar en el estudio no le supone someterse a ningún otro procedimiento y por tanto

tampoco tendrá un riesgo adicional. Se le comunicará el resultado de la determinación en el momento en que la tengamos.

CONFIDENCIALIDAD

Este estudio se llevará a cabo conforme a la legislación vigente sobre protección y confidencialidad de los datos (Ley orgánica de protección de datos 15/1999). Los resultados que se obtengan del estudio podrán ser publicados en conjunto sin revelar la procedencia. En cualquier momento, Ud. puede solicitar la rectificación de alguno de sus datos personales, así como revocar esta autorización sin que ello afecte a sus cuidados médicos. El estudio se llevará a cabo conforme a la legislación vigente sobre investigación Biomédica. B.O. de las Cortes Generales. Congreso de los Diputados nº104-1, 22 de septiembre de 2006.

CONSENTIMIENTO

Yo, D./D^a.....,

con DNI.....

he sido informado sobre el proyecto de investigación **“ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 y GDF5: RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS TENDONES ROTADORES DEL HOMBRO”**. Se me ha explicado el procedimiento y los objetivos de dicho estudio y se me han aclarado las dudas que me han surgido. Comprendo que mi participación es voluntaria y comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

También he sido informado que mis datos y los resultados del estudio se manejarán acorde a la legislación vigente sobre protección y confidencialidad de los datos (Ley orgánica de protección de datos 15/1999 Y Ley 41/2002 de 14 de noviembre, básica reguladora de la Autonomía del Paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica).

PREGUNTAS

Si tiene alguna duda o pregunta con relación al estudio ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES Col1A1, Col5A1 y GDF5: RELACIÓN CON LESIONES EN EL MANGUITO DE LOS ROTADORES, no dude en contactar con el investigador principal del estudio (Dra. Sonia Vidal), a través del correo electrónico svidalrodriguez@asepeyo.es o soniavidal@telefonica.net o bien llamando al teléfono 649214719

Por todo ello, doy mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del paciente y nº DNI

Fecha:

Firma del médico que informa y nº D.N.I.

Fecha:

Derecho de **revocación** del consentimiento:

Firma del paciente y nº DNI

Fecha:

Firma del médico que informa y nº D.N.I.

Fecha:

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Madrid, a 07 de mayo de 2012

El Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de la Princesa en su reunión del día 26-04-12 (acta 08/12) evaluó el siguiente proyecto de investigación:

TITULO: Análisis de polimorfismos en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5: relación con lesiones en el manguito de los rotadores del hombro.

Nº de Registro: PI-615

Investigador principal: Dra. Sonia Vidal (Servicio de Traumatología, Hospital Asepeyo, Coslada)

Ponentes: E. Martín, E. Alday

Decisión tomada: Aprobación (26-04-12).

Este Comité Ético de Investigación Clínica considera que tanto el proyecto de investigación como la Hoja de información al paciente son ética y metodológicamente aceptables. Asimismo, considera que los investigadores son competentes para llevar a cabo este proyecto.

NOTA: Se considera que el riesgo de la extracción de sangre por determinación tiene un riesgo despreciable y no es necesario un seguro.


Fdo: **Dra. M^a de Mar Ortega Gómez**
Secretaria del C.E.I.C

TEST DE CONSTANT MODIFICADO

A.- Dolor (/15): media (1 + 2/2) A

1. ¿Cuánto dolor tiene dolor en el hombro en sus actividades de la vida diaria?

No = 15 pts, Mild pain = 10 pts, Moderate = 5 pts, Severe or permanent = 0 pts.

2. Escala lineal:

Si "0" significa no tener dolor y "15" el mayor dolor que pueda sentir, haga un círculo sobre el nivel de dolor de su hombro a
La puntuación es inversamente proporcional a la la escala de dolor (Por ejemplo, un nivel de 5 son 10 puntos)

| | |
|-----------------|---------------------------------------|
| Nivel de dolor: | <input type="text"/> |
| | 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 |
| Puntos: | <input type="text"/> |
| | 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0 |

B.- Actividades de la vida diaria (/20) Total (1 + 2 + 3 + 4) B

1. ¿Esta limitada tu vida diaria por tu hombro?

No = 4, Limitacio moderada = 2, Limitacion severa = 0

2. ¿Esta limitada tu actividad deportiva por tu hombro?

No = 4, Limitacio moderada = 2, Limitacion severa = 0

3. ¿Te despiertas por el dolor de hombro?

No = 2, A veces = 1, Si = 0

4. ¿Hasta que altura puedes elevar tu brazo para coger un objeto (pe. un vaso)?

Cintura = 2, Xiphoides (esternon) = 4, Cuello = 6, Cabeza = 8, Sobre cabeza = 10

C.- Balance articular (/40): Total (1 + 2 + 3 + 4)

1.- Flexion anterior:

| | |
|-----------|--------|
| 0 - 3 | 0 pts |
| 31 - 60 | 2 pts |
| 61 - 90 | 4 pts |
| 91 - 120 | 6 pts |
| 121 - 150 | 8 pts |
| > 150 | 10 pts |

2.- Abduccion:

| |
|-----------|
| 0 - 30 |
| 31 - 60 |
| 61 - 90 |
| 91 - 120 |
| 121 - 150 |
| > 150 |

3.- Rotacion externa:

| | |
|--|--------|
| Mano nuca | 0 pts |
| Mano detras de la cabeza y codos delante | 2 pts |
| Mano detras de la cabeza y codos detras | 4 pts |
| Mano sobre la cabeza y codos delante | 6 pts |
| Mano sobre la cabeza y codos detras | 8 pts |
| Elevacion completa del brazo | 10 pts |

4.- Rotacion interna: (Pulgar hasta)

| |
|---------------------|
| Muslo |
| Nalga |
| Artic. SI |
| Cintura |
| T12 |
| Entre las escapulas |

4.7. Criterios de inclusión y exclusión

El síntoma principal entre los pacientes del grupo de estudio fue el dolor de hombro (omalgia)

El diagnóstico de lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro se estableció mediante una exploración clínica completa y pruebas de imagen (radiografías, ecografía, resonancia magnética nuclear) y la revisión de la historia clínica, teniendo en cuenta datos epidemiológicos y laborales.

La petición de pruebas de imagen para confirmar la lesión de manguito, en aquellos pacientes que no las aportaban, quedaron a criterio clínico del evaluador (doctoranda).

Quedaron incluidos también los pacientes ya diagnosticados con lesión de manguito de los tendones rotadores del hombro y remitidos a Unidad de Hombro del Hospital Asepeyo, desde un Centro Asistencial de Asepeyo. Todos los pacientes ya diagnosticados y con pruebas diagnósticas aportadas, fueron valorados nuevamente a través de la escala de Constant modificada.

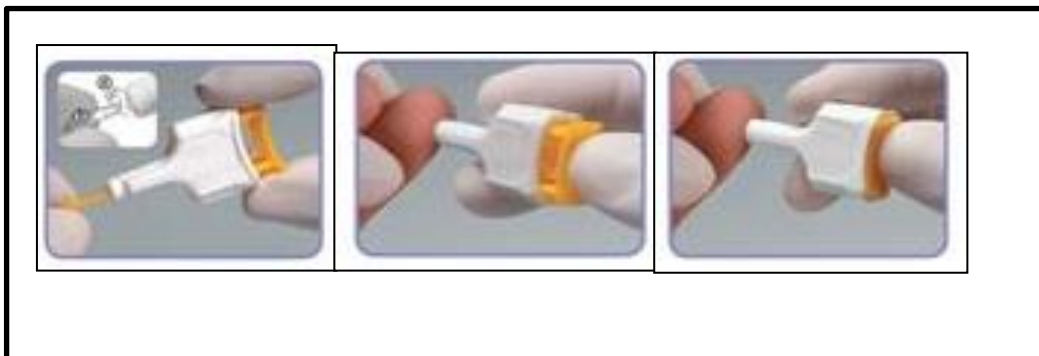
Finalmente, quedaron incluidos como casos aquellos pacientes con clínica compatible con lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro y una resonancia magnética nuclear con imagen de rotura completa masiva de tendones del supraespinoso e infraespinoso, con retracción y atrofia de los vientres musculares. En el caso de la ecografía quedaron incluidos los pacientes con imagen de rotura de espesor completo de tendones de manguito rotador del hombro. Quedaron excluidos los pacientes con tratamiento previo con más de 3 infiltraciones en el hombro y los que habían sido tratados con cirugía previamente. Se excluyeron también los pacientes en tratamiento

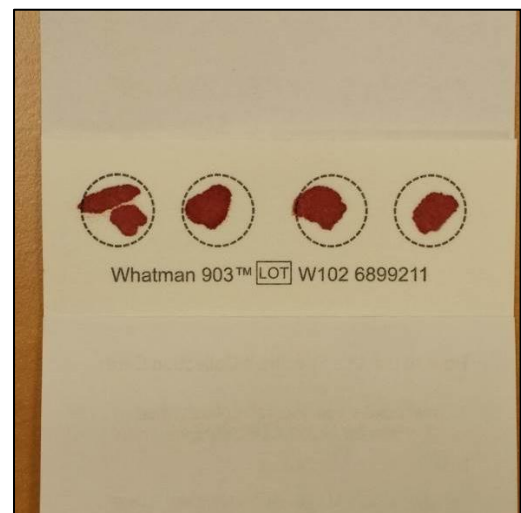
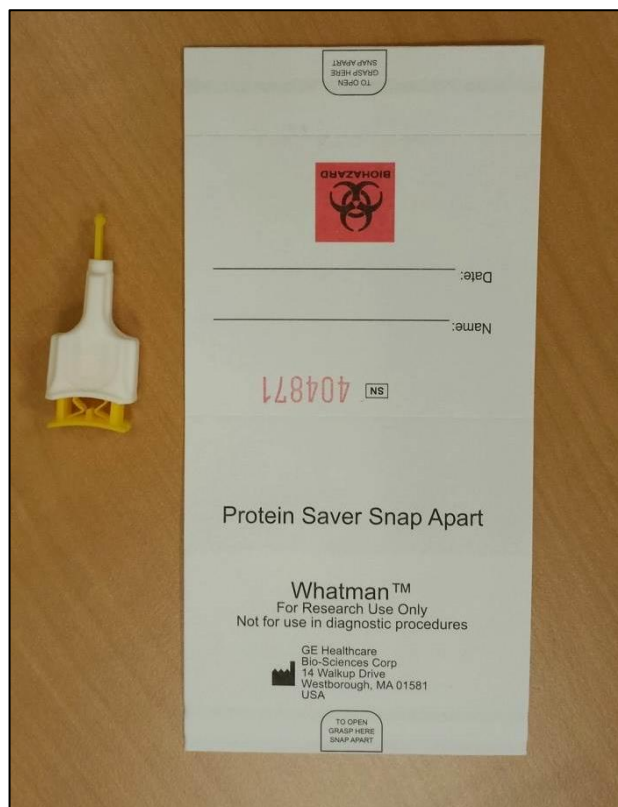
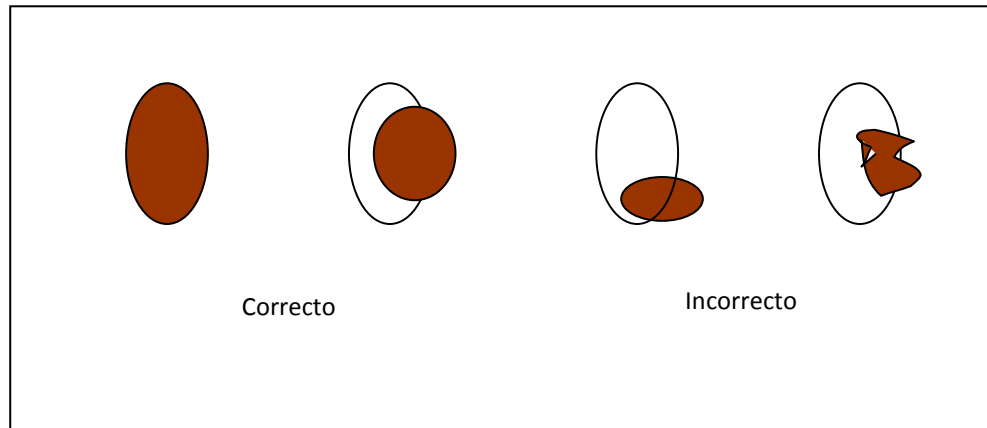
prolongado con corticoides orales por enfermedades articulares sistémicas (artritis reumatoide y espondilo-artropatías) y aquellos con enfermedad tumoral activa y /o en tratamiento.

El grupo control presentaba ausencia completa de dolor de hombro, y se confirmó que no refería antecedente traumático o patología de hombro previa.

4.8 Detección de polimorfismos

A los pacientes candidatos se les solicitó un consentimiento informado por escrito para participar. Tras dar su consentimiento, se procedió a un pinchazo en el pulpejo de un dedo de la mano con una lanceta estéril desechable y se depositó una gota de sangre en una tarjeta de toma de muestras. Las tarjetas se enviaron, bajo código de seguridad, al laboratorio donde se procedió a realizar la determinación de los distintos polimorfismos. Todas las determinaciones fueron llevadas a cabo por la propia doctoranda.





Para la extracción del ADN total de las muestras de sangre depositadas en las tarjetas de toma de muestra, se recorta un fragmento de las mismas de 5x5mm aproximadamente. Los fragmentos se lavan en 1ml de H₂O destilada con agitación orbital durante 15 minutos. A continuación, se centrifuga a 12.500g

durante 3 minutos y se retira el sobrenadante. Se añade 1ml de H₂O destilada y se repite el proceso de lavado y centrifugación. Tras quitar el sobrenadante, el fragmento de tarjeta se pasa a otro tubo con 60µl de tampón TE (10mM Tris-HCl, 10mM EDTA pH 7.5) y se incuba a 50°C durante 15 minutos. Posteriormente, el fragmento de tarjeta se aplasta en el fondo del tubo y se vuelve a incubar a 97°C durante 15 minutos. Finalmente se centrifugan los tubos durante 4 segundos en una microcentrífuga y se recogen 50µl de sobrenadante que se pasan a un nuevo tubo y se conservan a -20°C hasta el momento de la determinación de los polimorfismos.

Los polimorfismos de un único nucleótido en los genes Col1A1 (rs1800012), GDF5 (rs143383) y Col5A1 (rs12722) se determinan mediante PCR a tiempo real utilizando sondas únicas específicas para cada polimorfismo (LightSNiP, TIB MOLBIOL) y el kit LightCycler FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics) en un termociclador LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics) con análisis de la temperatura de fusión de los híbridos.

Las condiciones de la PCR son: un paso de desnaturalización a 95°C durante 10 minutos seguido de 60 ciclos consistentes en un paso de desnaturalización a 95°C durante 10 segundos, un paso de hibridación a 60°C durante 10 segundos y un paso de extensión a 72°C durante 15 segundos. Tras la PCR se procede a la determinación de la temperatura de fusión de los híbridos aumentando la temperatura de la mezcla de reacción desde 40°C hasta 85°C con una rampa de temperatura de 0,2°C/segundo con adquisición continua de fluorescencia.

Las temperaturas de fusión para cada uno de los polimorfismos son las siguientes:

Gen Col1A1; alelo T 53,01°C; alelo G 64,84°C.

Gen GDF5; alelo C 57,09°C; alelo T 63,95°C.

Gen Col5A1; alelo C 65,88°C; alelo T 55,82°C.

4.9 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de todos los datos se realizó usando el programa SPSS (SPSS para Windows, versión 20; SPSS Inc.) y se llevó a cabo por la propia doctoranda.

En el análisis estadístico se llevó a cabo un estudio descriptivo general de la población objeto del trabajo. Las variables numéricas se definen por su media, desviación típica (DT), máximo y mínimo (Tablas). Las variables discretas se definen por su frecuencia en porcentajes (histogramas de frecuencia).

Se procedió también a un análisis inferencial (relación entre los diferentes factores de riesgo con la presencia o no de lesión o la localización de la misma) mediante pruebas paramétricas o no paramétricas, según la variable. En las variables cuantitativas, se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk y posteriormente se eligieron las pruebas paramétricas U de Mann-Whitney para las variables que no presentaban una distribución normal.

Para las variables cualitativas se han aplicado las pruebas de chi-cuadrado y el test exacto de Fisher, con estudio de residuos estandarizados cuando dichos tests han resultado significativos.

En el estudio de la relación entre las variables clínicas y genéticas, se han considerado significativos los valores iguales o menores a 0.05 (p). En la comparación de frecuencias génicas y alélicas de los polimorfismos de los 3 genes estudiados en los grupos Raza, Sexo, Tipo de actividad laboral y Tipo de antecedente familiar se ha utilizado la prueba de chi cuadrado de Pearson para contrastar las diferencias entre grupos y detectar diferencias significativas. Se han considerado significativos los valores iguales o menores a 0,05 (p). Los casos en que el estudio de significación se ha aproximado a 0,1 (p) se han tratado como tendencias a la significación. Se han comparado las frecuencias observadas con la frecuencia esperada según el equilibrio Hardy-Weinberg ($P^2 + 2pq + q^2$).

Definiendo como caso la presencia de lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro, se ha obtenido por regresión logística condicional para los diferentes factores de riesgo el Odds Ratio y su intervalo de confianza a los 95%, ajustados por edad y sexo con el método de modelización forward.

El análisis de la calibración del modelo se realizó mediante el test de Hosmer-Lemeshow. Con la finalidad de poder afirmar la robustez del análisis se llevó a cabo una validación interna cruzada, obteniéndose una muestra aleatoria del 25% de la muestra en la que se evaluó el valor predictivo del mismo modelo multivariable.

5.RESULTADOS

5.1 Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio. Resultados estadísticos descriptivos.

5.1.1. Características epidemiológicas

De una muestra total de 207 pacientes, recogidos a lo largo de 2 años en el Hospital Monográfico de Traumatología, Cirugía Ortopédica y Rehabilitación de Asepeyo en Madrid, 103 corresponden a casos prevalentes con lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro y 104 fueron controles, con ausencia completa de lesión en el manguito rotador del hombro. En el grupo de casos, 23 eran mujeres y 80 varones, con una edad media de 48.25 años. En el grupo control, 18 eran mujeres y 86 varones, con una edad media de 43.35 años. El 89.9% de la muestra total, son individuos de raza blanca (96 casos y 90 controles) y sólo el 10.1% (7 casos y 14 controles) de los individuos son de raza negra.

CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

VARIABLES: *Raza* (caucásica, negra), *Edad media* (años), *Sexo* (varón, mujer),
Esfuerzos físicos para miembros superiores (intensos, moderados, leves),
Práctica de actividad deportiva que implique a miembros superiores.

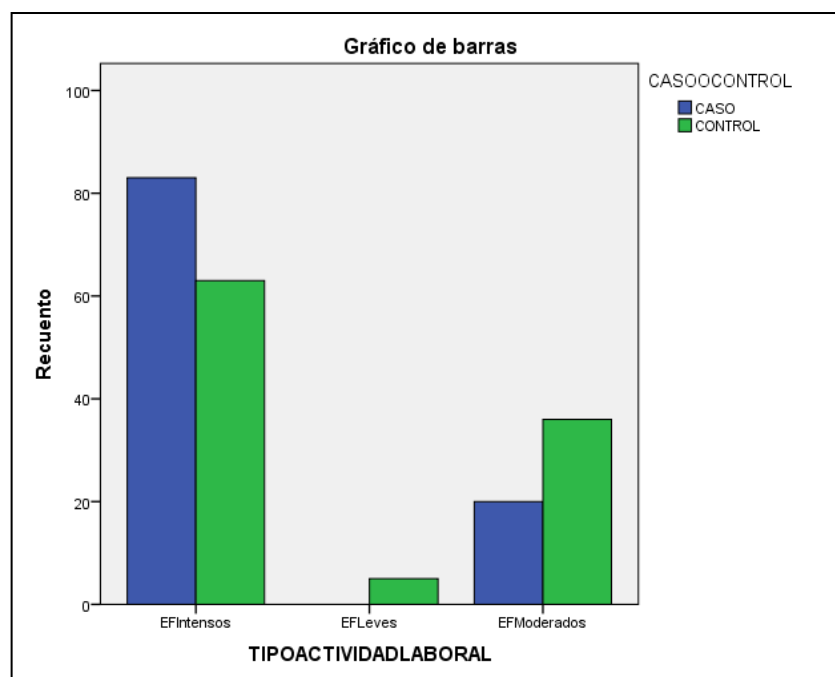
| VARIABLES | TOTAL 207 n(%) | CASOS 103 n(%) | CONTROL 104 n(%) | VALOR p | Odds ratio | 95% IC |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------|-------------------|---------------|
| <u>RAZA</u> | | | | | | |
| Caucasianos | 186(89,9) | 96(93,2) | 90(86,5) | 0,11 | 2,1 | 0,82-5,53 |
| Negra | 21(10,1) | 7(6,3) | 14(13,5) | | | |
| <u>EDAD media</u> | 45,79 | 48,25 | 43,35 | <0,001 | | |
| <u>SEXO</u> | | | | | | |
| Varones | 166(80,2) | 80(77,7) | 86(82,7) | 0,36 | 0,7 | 0,37-1,45 |
| Mujeres | 41(19,8) | 23(22,3) | 18(17,3) | | | |
| <u>E. FÍSICOS</u> | | | | | | |
| Intensos | 146(70,5) | 83(80,6) | 63(60,6) | 0,002 | 2,7 | 1,44 -5,06 |
| Moderados | 56(27,1) | 20(19,4) | 36(34,6) | | | |
| Leves | 5(2,4) | 0 | 5(4,8) | | | |
| <u>DEPORTE MS</u> | 50(24,2) | 21(20,4) | 29(27,9) | 0,21 | 0,66 | 0,35 - 1,26 |

5.1.2. Actividad laboral

En relación al tipo de actividad laboral desempeñada, el 70.5% (146) de la muestra total desarrollaba actividades que suponen esfuerzos físicos intensos para los miembros superiores. El 27.1% (56), llevaba a cabo esfuerzos de carácter moderado y sólo un 2.4% (5) del total de pacientes incluidos en el estudio desempeñaba esfuerzos físicos leves para los miembros superiores. El 91.8% de todos los pacientes incluidos son trabajadores en régimen de cotización por cuenta ajena y sólo el 7.7% son trabajadores que cotizan en calidad de autónomos.



| | CASOS 103 | CONTROLES 104 |
|--------------|-----------|---------------|
| Peluquería | 0 | 2 |
| Mecánicos | 15 | 9 |
| Camareros | 4 | 3 |
| Conductores | 25 | 12 |
| Limpieza | 9 | 9 |
| Construcción | 30 | 28 |
| Administrac. | 20 | 36 |
| Dirección | 0 | 5 |

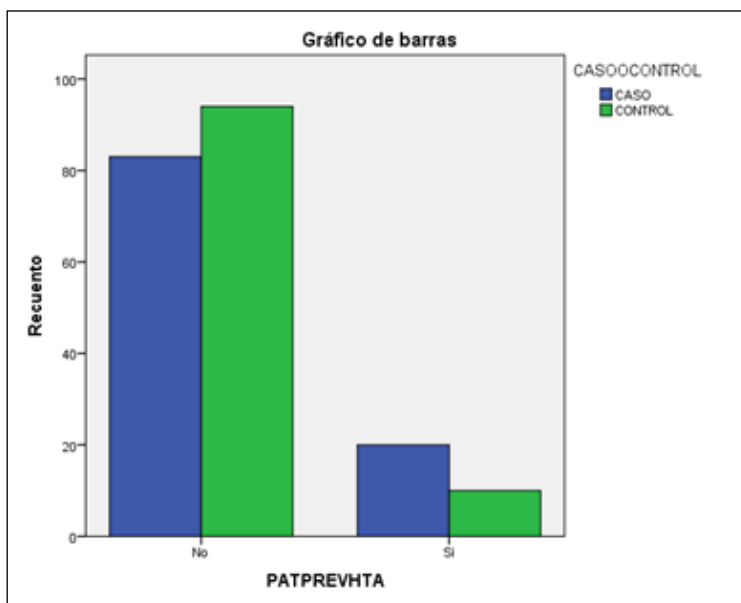


5.1.3. Antecedentes médicos personales

En relación a la frecuencia de patologías asociadas en la población en estudio:

| VARIABLES | Total 207 n(%) | CASOS 103 n(%) | Control 104 n(%) | VALOR p | Odds ratio | 95% IC |
|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------|------------|-------------|
| Diabetes Mellitus | 9 (3.9) | 7(5.9) | 2(1.9) | 0.14 | 3,72 | 0,75- 18,35 |
| HTA | 30(14.5) | 20(19.4) | 10(9.6) | <0.04 | 2,27 | 1,0-5,11 |
| Hiperuricemia | 5 (2.4) | 1(1.0) | 4(3.8) | 0.18 | 0,25 | 0,03- 2,23 |

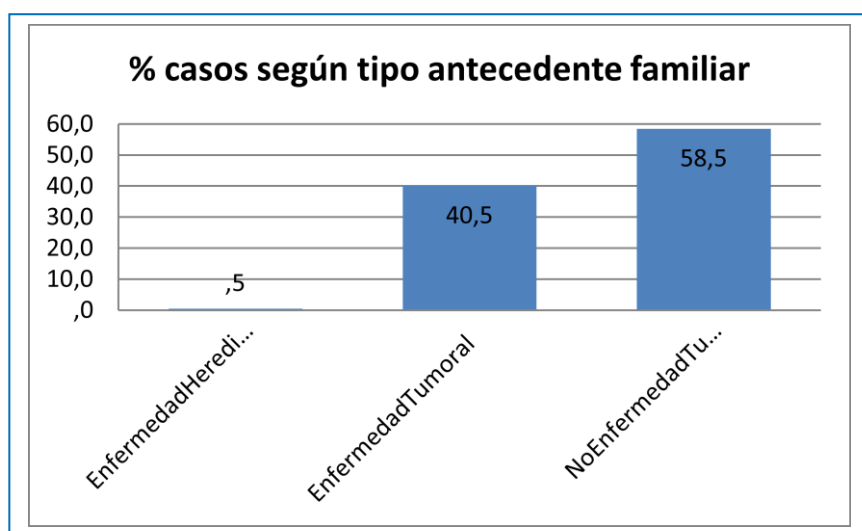
Todos los pacientes diabéticos (9) se encontraban con tratamiento. En el grupo de casos, cinco (5) seguían tratamiento con insulina y dos (2) con antidiabéticos orales. En el grupo control, los dos (2) pacientes diabéticos estaban tratados con insulina. Todos los pacientes con hipertensión arterial, (30) tanto casos como controles, seguían tratamiento con beta-bloqueantes, sin asociación de diuréticos ni antagonistas del calcio.



De todos los pacientes diagnosticados de hiperuricemia (5), sólo uno (1), que corresponde al grupo de casos, seguía tratamiento farmacológico con alopurinol ; el resto (4), mantenían control con dieta específica.

5.1.4. Antecedentes médicos familiares

En el tipo de antecedente familiar, se han diferenciado tres grupos: aquellos pacientes con antecedentes familiares de patología tumoral, el 40.5% de la muestra global; aquellos sin antecedentes familiares de etiología tumoral, el 58.5% del total de pacientes incluidos en el estudio; y enfermedades de carácter hereditario, sólo el 0.5%.

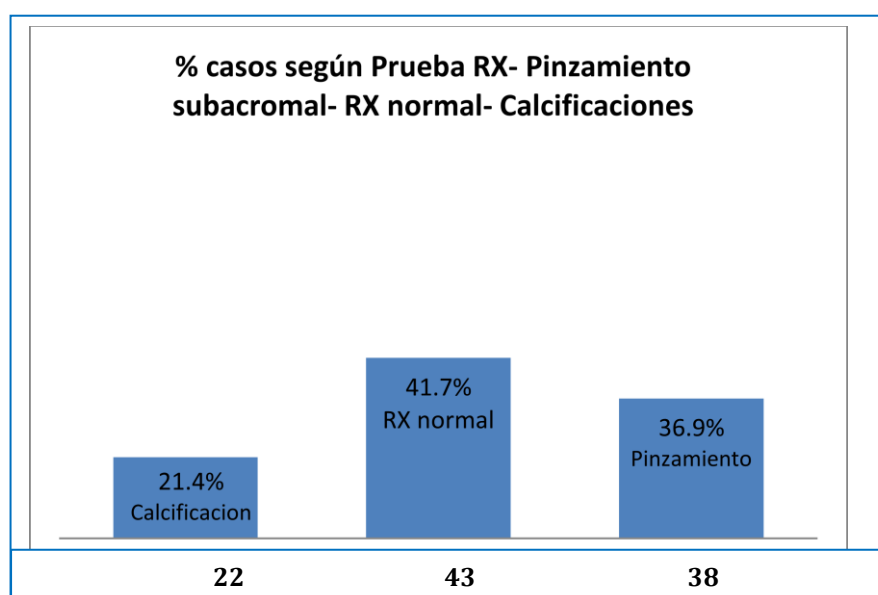


En el grupo control sólo un paciente presentaba una enfermedad hereditaria: hemofilia. No se ha detectado ninguna enfermedad de características hereditarias en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Cuarenta y un pacientes (41) del grupo con lesiones en el manguito tenían antecedentes de patología tumoral en familiares de primer grado (20 cáncer de pulmón, 6 cáncer de mama y 4 cáncer de próstata). En el grupo control existían 42 pacientes con antecedentes tumorales

en familiares de primer grado (10 cáncer de mama, 10 cáncer de colon, 10 cáncer de pulmón, 8 leucemias y 4 cáncer de próstata).

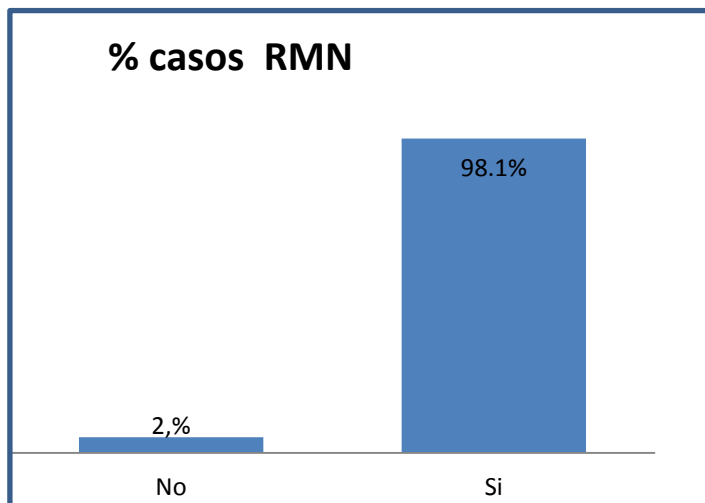
5.1.5. Radiología simple

La imagen radiológica (radiografía simple con proyecciones anteroposterior, lateral y out-let) mayoritaria en los pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, fue una imagen radiológica normal 41.7% (43), sin imagen de pinzamiento subacromial y sólo el 21.4% (22) presentaban imágenes compatibles con calcificaciones intra-tendinosas. Todos los pacientes del grupo de casos tenían RX de hombro. Ningún paciente del grupo control, aportaba Rx de hombro.



5.1.6. RMN

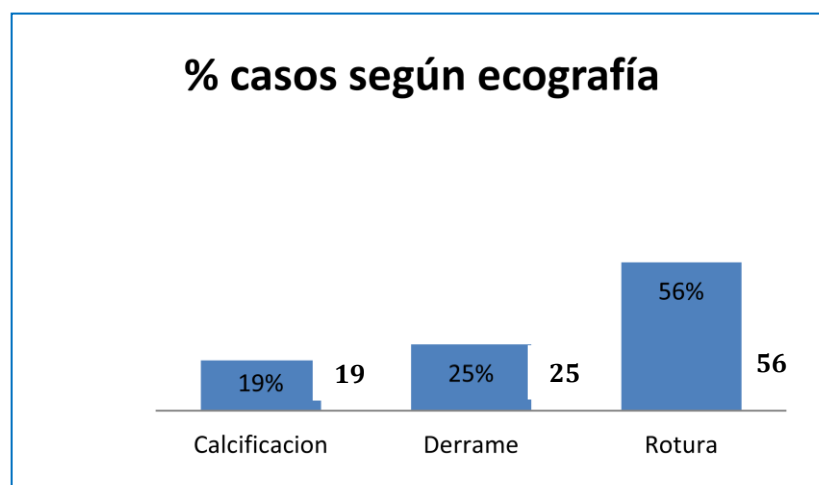
La Resonancia Magnética Nuclear es una prueba de imagen que sólo figura en el grupo de casos (103). De todos ellos, sólo el 98.1%(101) la tienen realizada, con imagen de rotura en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Dos pacientes, 2%, diagnosticados de rotura de manguito de los tendones rotadores del hombro, no tienen una Resonancia Magnética Nuclear realizada.



5.1.7. Ecografía

La ecografía es una prueba diagnóstica por imagen que sólo figura en el grupo de casos, en pacientes con rotura del manguito de los tendones rotadores del hombro. Entre ellos, sólo se realizó en 100 pacientes.

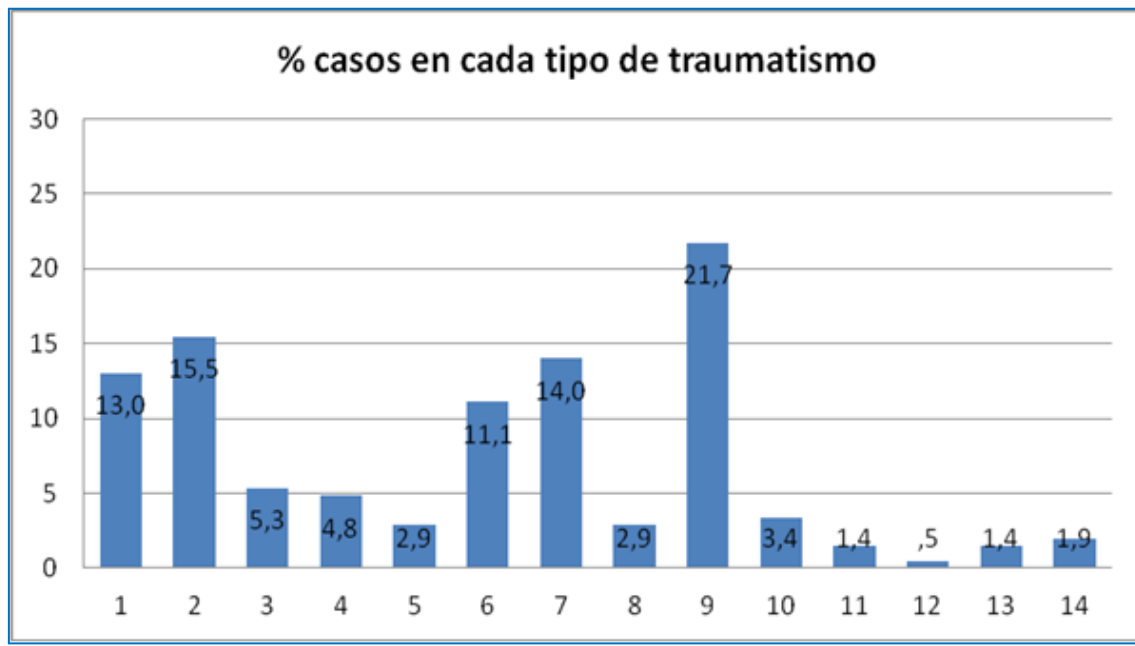
La imagen ecográfica mayoritaria corresponde a rotura tendinosa en el 56% de los casos. El resto se distribuye entre pacientes con imágenes de derrame, 25% y calcificaciones intratendinosas, 19%.



5.1.8. Antecedentes ortopédicos

El 21.7% (45) de la muestra no refiere ningún antecedente traumático previo a la lesión (tipo 9); en el 15.5% (32) se identifica rotura traumática de menisco de rodilla (tipo 2); el 14% (29) de los individuos refieren esfuerzo físico tras una tracción brusca sobre miembros superiores (tipo 7) y el 13% (27) presenta una rotura traumática de ligamento cruzado anterior de rodilla (tipo 1)

- 1.- Rotura de ligamento cruzado anterior de rodilla
- 2.- Rotura de menisco de rodilla
- 3.- Rotura de tendón de bíceps
- 4.- Rotura de tendones extensores de dedos mano
- 5.- Rotura de tendones flexores dedos mano
- 6.- Esfuerzo físico cogiendo peso
- 7.- Esfuerzo físico tras tracción brusca sobre miembros superiores
- 8.- Esfuerzo físico tra quedarse colgado sobre miembros superiores.
- 9.- El paciente no refiere traumatismo previo.
- 10.- Epicondilitis-epitrocleitis
- 11.-Luxación codo, rotura ligamento colateral
- 12.-Rotura tendón coracobraquial
- 13.-Rotura ligamento escafo-lunar.
- 14.- Fractura de húmero



5.1.9. Puntuación en la escala de Constant Modificada

Se han analizado los valores medios de las variables que constituyen la Escala de Constant modificada:

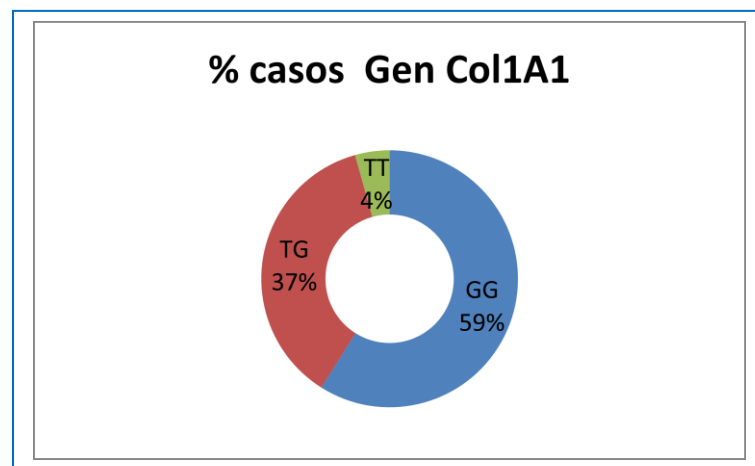
| | Media | DT | Máximo | Mínimo |
|------------------------------|-------|------|--------|--------|
| <i>Dolor</i> | 8,5 | 6,6 | 15 | 0 |
| <i>Dificultad AVD</i> | 13,4 | 6,9 | 20 | 0 |
| <i>Movilidad</i> | 29,7 | 11,7 | 40 | 0 |
| <i>Valor Total</i> | 52,2 | 23,8 | 75 | 12 |

AVD : Actividades de la vida diaria DT : Desviación Típica

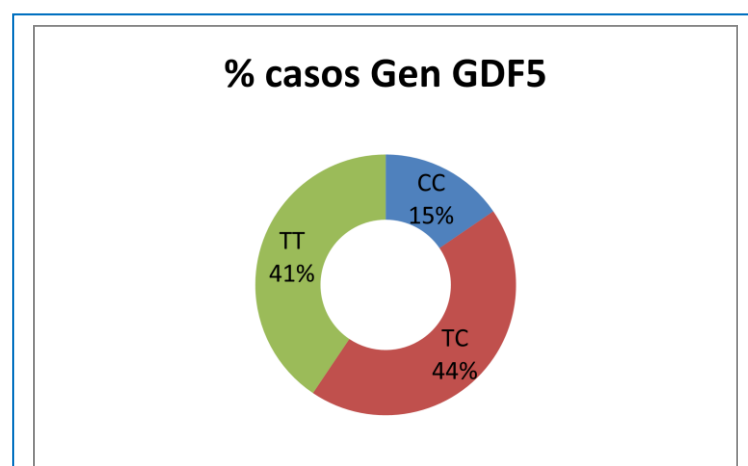
5.2 Hallazgos de polimorfismos

El perfil genético de la muestra total incluida en el estudio, se distribuye de la siguiente manera:

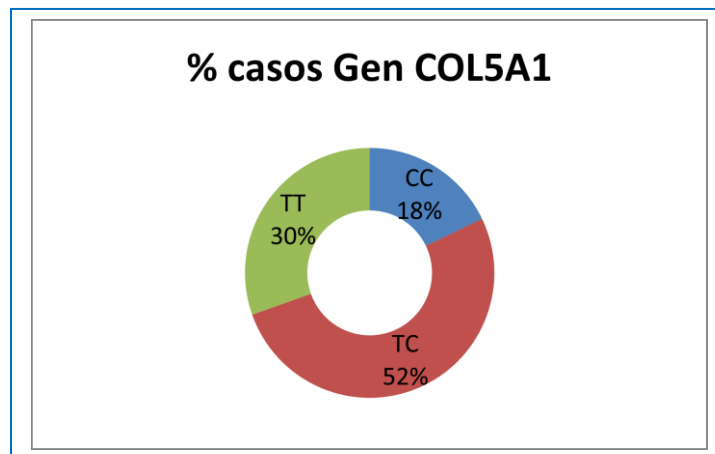
GenCOL1A1: Homocigotos **GG** 58,9% (122); Heterocigotos **TG** 36,7 % (76); Homocigotos **TT** 4,3 % (9).



GenGDF5: Heterocigotos **TC** 44 % (91); Homocigotos **TT** 40,6 % (84)
Heterocigotos; **CC** 15,5% (32)



GenCOL5A1: Heterocigotos **TC** 51,7 %(107); Homocigotos **TT** 30,4 %(63);
Heterocigotos **CC** 17,9%(37).



5.3 Comparación entre pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro y pacientes con lesiones en otras localizaciones anatómicas

5.3.1. Edad Existe una diferencia significativa ($p < 0.001$) entre la media de edad de los grupos Control y Casos.

| <u>EDAD Comparación de medias</u> | | | | | |
|--|--------------|--------|--------|--------|--------------|
| CASO- CONTROL | Media | DT | Mínimo | Máximo | SIG |
| CASO | <u>48,25</u> | 10,463 | 22 | 67 | 0,001 |
| CONTROL | <u>43,35</u> | 10,874 | 21 | 66 | |
| Total | 45,79 | 10,926 | 21 | 67 | |

5.3.2. Vida laboral (años)

No hay diferencias significativas en relación al tiempo medio de vida laboral en cada uno de los grupos.

| CASO- CONTROL | Media | DT | Mínimo | Máximo | SIG |
|------------------|-------|-------|--------|--------|--------------|
| CASO | 20,33 | 8,736 | 3 | 42 | 0,280 |
| CONTROL | 18,96 | 9,429 | 0 | 42 | |
| Total | 19,64 | 9,095 | 0 | 42 | |

5.3.3. Sexo: La distribución de sexos es similar en ambos grupos ($p=0.36$).

| | | CASO-CONTROL | | Total |
|--------------------|-------|--------------|---------|-------|
| | | CASO | CONTROL | |
| <u>SEXO</u> | mujer | 23 | 18 | 41 |
| | varon | 80 | 86 | 166 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

5.3.4. Raza

No se han detectado diferencias significativas en la distribución de razas entre los dos grupos ($p=0.11$).

| | | CASO-CONTROL | | Total |
|--------------------|---------------|--------------|---------|-------|
| | | CASO | CONTROL | |
| <u>RAZA</u> | Blanca | 96 | 90 | 186 |
| | Negra | 7 | 14 | 21 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

5.3.5. Régimen laboral

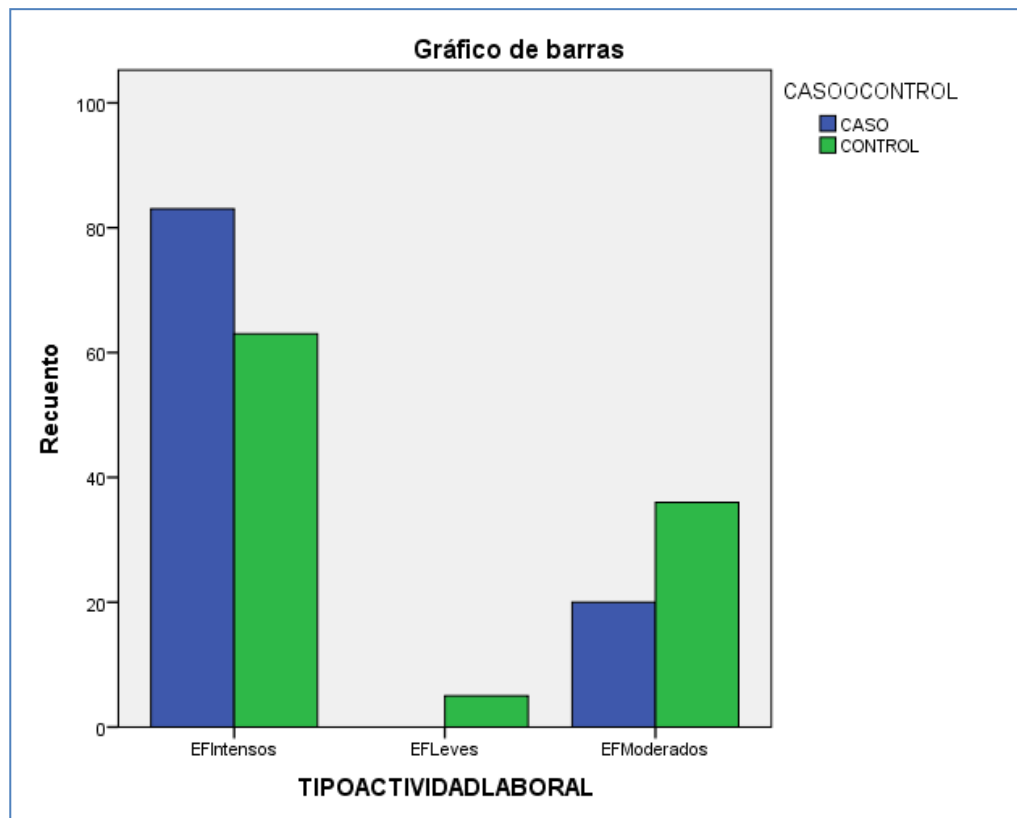
La distribución por tipo de trabajador; autónomo o trabajador por cuenta ajena, también fue similar en ambos grupos ($p=0.29$)

| | | CASO-CONTROL | | Total |
|------------------------------|--------------|--------------|---------|-------|
| | | CASO | CONTROL | |
| <i>TIPOTRABAJADOR</i> | Autónomo | 10 | 6 | 16 |
| | Cuenta Ajena | 93 | 98 | 191 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

5.3.6. Actividad laboral

Se han observado diferencias significativas en la distribución según el tipo de actividad laboral desempeñada, con una mayor cantidad de sujetos que realizaron esfuerzos físicos intensos para miembros superiores y una menor cantidad de sujetos que realizaron esfuerzos moderados en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, en comparación con el grupo control ($p=0.002$).

| | | CASO-CONTROL | | Total |
|-------------------------|---------------------------|--------------|---------|-------|
| | | CASO | CONTROL | |
| <u>TIPO</u> | <i>EFIntensos</i> | 83 | 63 | 146 |
| <u>ACTIVIDAD</u> | <i>EFLeves</i> | 0 | 5 | 5 |
| <u>LABORAL</u> | <i>EFModerados</i> | 20 | 36 | 56 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |



5.3.7. Actividad deportiva que implica a miembros superiores

La distribución es similar en ambos grupos (**p=0.21**) en relación al desempeño o no de actividades deportivas que implican a los miembros superiores.

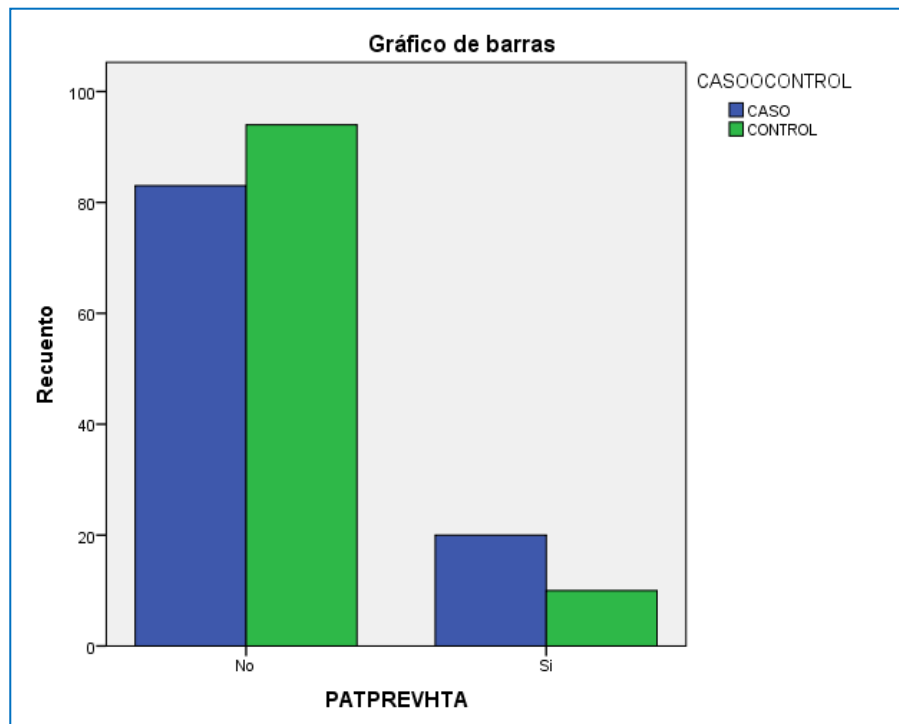
| | | CASO-CONTROL | | Total |
|----------------------------|----|--------------|---------|-------|
| | | CASO | CONTROL | |
| <u>DEPORTE MMSS</u> | No | 82 | 75 | 157 |
| | Si | 21 | 29 | 50 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

5.3.8. Antecedentes médicos personales

Se han encontrado diferencias significativas sobre la incidencia de hipertensión arterial, siendo mayor en el grupo de pacientes con patología en el manguito de los tendones rotadores del hombro (**p<0.04**).

VARIABLES CLÍNICAS

| VARIABLES | TOTAL 207 n(%) | CASOS 103 n(%) | CONTROLES 104 n (%) | VALOR p |
|--------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| <i>Diabetes Mellitus</i> | 9 (3.9) | 7(5.9) | 2(1.9) | 0.14 |
| <i>HTA</i> | 30(14.5) | 20(19.4) | 10(9.6) | <0.04 |
| <i>Hiperuricemia</i> | 5 (2.4) | 1(1.0) | 4(3.8) | 0.18 |



No hay diferencias en relación a otras patologías sistémicas estudiadas: la diabetes ($p=0.14$) y la hiperuricemia ($p=0.18$).

5.3.9. Antecedentes familiares

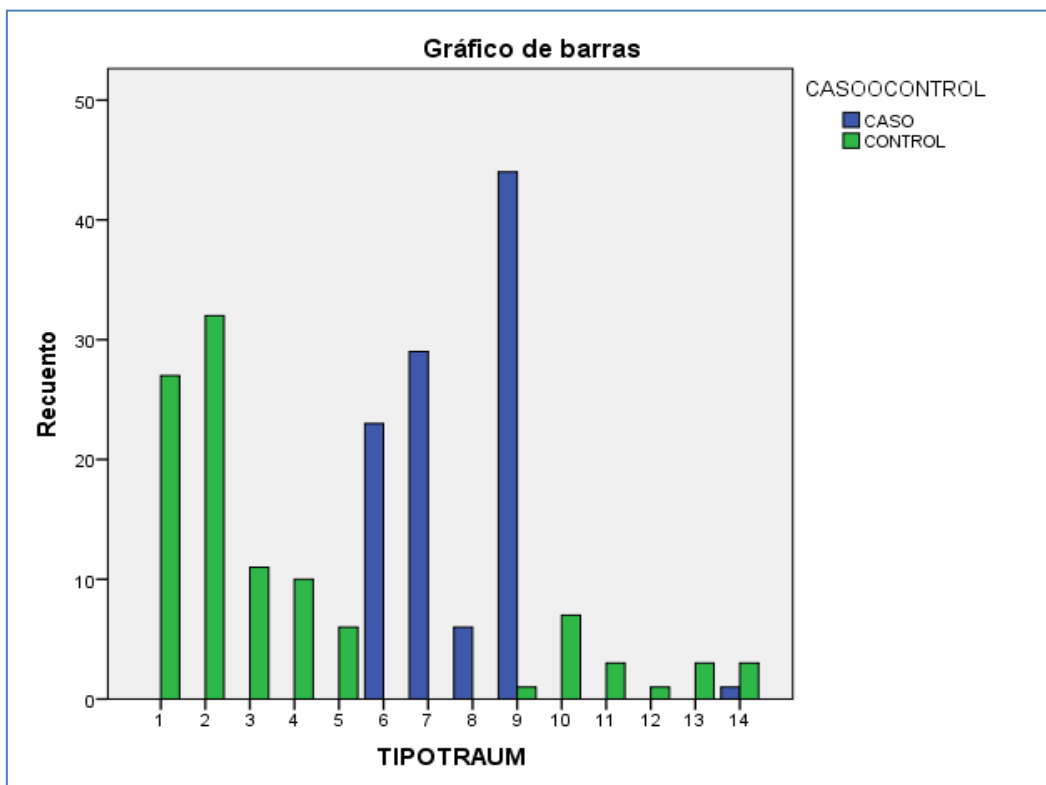
Tampoco existen diferencias en cuanto a los antecedentes familiares considerados: tumoral o enfermedad hereditaria ($p=0.64$ y $p=0.6$, respectivamente).

En el grupo control sólo un paciente presentaba una enfermedad hereditaria: hemofilia. No se ha detectado ninguna enfermedad de características hereditarias en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Cuarenta y un pacientes del grupo con lesiones en el manguito tenían antecedentes de patología tumoral en familiares de primer grado (20 cáncer de pulmón, 6 cáncer de mama y 4 cáncer de próstata). En el grupo control existían 42 pacientes de enfermedad tumoral en familiares de primer grado (10 cáncer de mama, 10 cáncer de colon, 10 cáncer de pulmón, 8 leucemias y 4 cáncer de próstata).

5.3.10. Antecedentes ortopédicos

Se han identificado diferencias significativas en la distribución del tipo de traumatismo referido por cada paciente (codificados de 1 a 14) entre ambos grupos ($p= 0.0001$). La rotura de ligamento cruzado anterior (1º), la rotura meniscal (2º), rotura de tendón de bíceps braquial distal (3º), la rotura de tendones extensores de dedos de la mano (4º), la rotura de tendones flexores de dedos de la mano (5º), epicondilitis y epitrocleítis (10º) son traumatismos

identificados sólo en el grupo control. En el grupo de pacientes con lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro sólo se identificaron tres tipos de antecedente traumático: el esfuerzo físico cogiendo peso (6º), el esfuerzo físico (7º) tras tracción brusca sobre miembros superiores, y tras quedar colgado de miembros superiores (8º). La ausencia de traumatismo previo sobre el hombro, referido por el paciente y contrastada con los datos en la historia clínica, se identifica en ambos grupos, con una incidencia significativamente mayor en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Las fracturas de húmero se produjeron en ambos grupos, pero sin diferencia entre ellos en cuanto a incidencia.



5.3.11. Escala de Constant Modificada

Para la evaluación de las variables que incluye la escala de Constant modificada se ha llevado a cabo una comparación de medias (ANOVA) en la que se ha demostrado una diferencia significativa ($p < 0.0001$) entre ambos grupos. Se observa en todas las variables una media significativamente menor en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

Comparación entre medias de variables-Constant

DOLOR Comparación de medias

| CASOOCONTROL | Media | Desv. típ. | Mínimo | Máximo | SIG |
|--------------|-------|------------|--------|--------|--------|
| CASO | 2,04 | 1,455 | 0 | 7 | 0,0001 |
| CONTROL | 14,95 | ,490 | 10 | 15 | |
| Total | 8,53 | 6,562 | 0 | 15 | |

DIFICULTADENACTIVIDADES Comparación de medias

| CASOOCONTROL | Media | Desv. típ. | Mínimo | Máximo | SIG |
|--------------|-------|------------|--------|--------|--------|
| CASO | 6,81 | 3,224 | 0 | 18 | 0,0001 |
| CONTROL | 19,94 | ,588 | 14 | 20 | |
| Total | 13,41 | 6,976 | 0 | 20 | |

MOVILIDAD Comparación de medias

| CASOOCONTROL | Media | Desv. típ. | Mínimo | Máximo | SIG |
|--------------|-------|------------|--------|--------|--------|
| CASO | 19,49 | 7,897 | 0 | 34 | 0,0001 |
| CONTROL | 39,87 | 1,373 | 26 | 40 | |
| Total | 29,72 | 11,669 | 0 | 40 | |

ESCALACONSTANTMODTOTAL Comparación de medias

| CASOOCONTROL | Media | Desv. típ. | Mínimo | Máximo | SIG |
|--------------|-------|------------|--------|--------|--------|
| CASO | 29,16 | 8,758 | 12 | 47 | 0,0001 |
| CONTROL | 75,00 | 0,000 | 75 | 75 | |
| Total | 52,19 | 23,790 | 12 | 75 | |

5.3.12. Polimorfismos

En lo referente a las variables genéticas no se hallaron diferencias significativas en la incidencia de los tres polimorfismos estudiados en los genes Col1A1 (**p=0.26**) y Col5A1 (**p= 0.41**).

| Tabla de contingencia GENCOL1A1 * CASO-CONTROL | | | | |
|--|-----------|--------------|---------|-------|
| | | CASO-CONTROL | | Total |
| | | CASO | CONTROL | |
| GENCOL1A1 | GG | 66 | 56 | 122 |
| | TG | 34 | 42 | 76 |
| | TT | 3 | 6 | 9 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

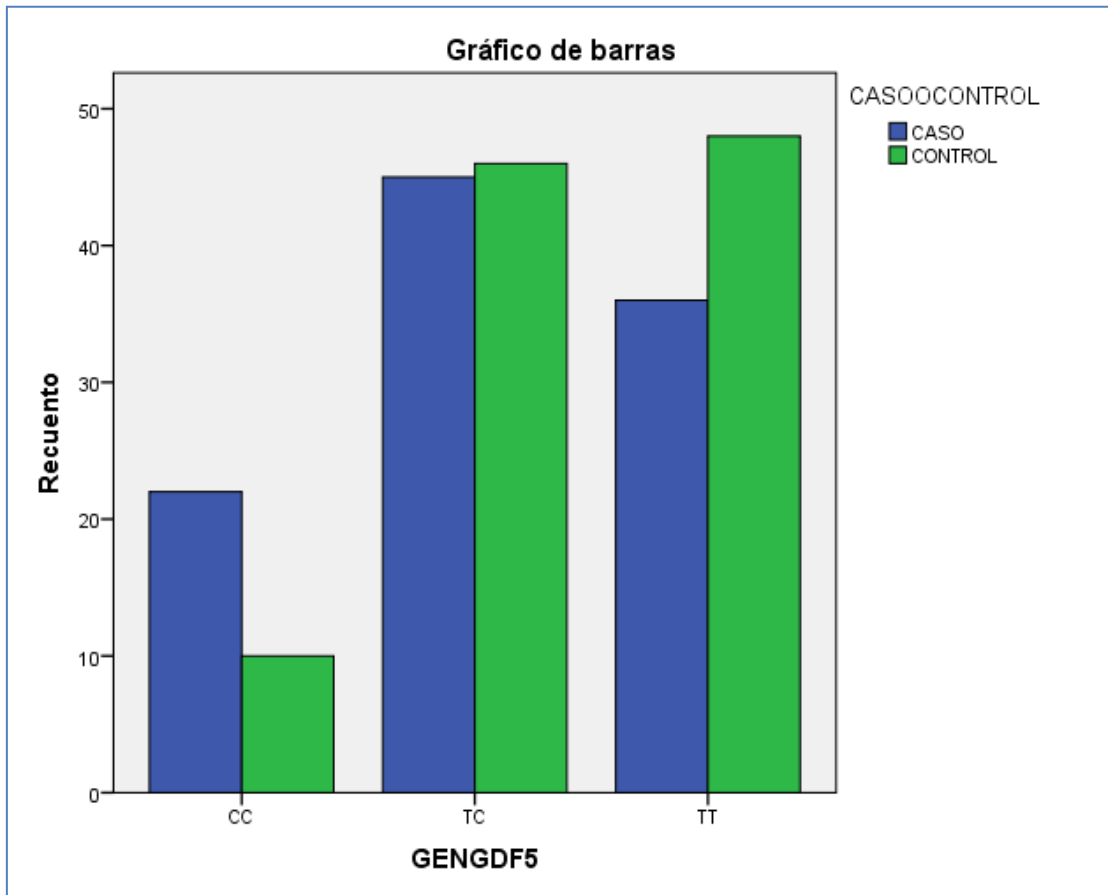
| Tabla de contingencia GENCOL5A1 * CASO-CONTROL | | | | |
|--|-----------|--------------|---------|-------|
| | | CASO-CONTROL | | Total |
| | | CASO | CONTROL | |
| GENCOL5A1 | CC | 19 | 18 | 37 |
| | TC | 57 | 50 | 107 |
| | TT | 27 | 36 | 63 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

Por el contrario en lo referente al Gen GDF5, se evidenciaron diferencias significativas (Sig. Chi-cuadrado **0,04**) entre ambos grupos en el Polimorfismo *Homocigoto CC*, más frecuente en el grupo de pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

| Tabla de contingencia GENGDF5 * CASOCONTROL | | | | |
|---|-----------|--------------|---------|-------|
| | | CASO-CONTROL | | Total |
| | | CASO | CONTROL | |
| GENGDF5 | CC | 22 | 10 | 32 |
| | TC | 45 | 46 | 91 |
| | TT | 36 | 48 | 84 |
| Total | | 103 | 104 | 207 |

Distribución de polimorfismos

| Variables | | Total 207 n(%) | Casos 103 n(%) | Control 104 n (%) | Valor p | Odds ratio | 95% IC |
|---------------|-----------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------|------------|-----------|
| Col1A1 | | | | | | | |
| | GG | 122(58,9) | 66(64,1) | 56(53,8) | 0,26 | 1,53 | 0,88-2,67 |
| | TG | 76(36,7) | 34(33,0) | 42(40,4) | | | |
| | TT | 9(4,3) | 3(2,9) | 6(5,8) | | | |
| Col5A1 | | | | | | | |
| | CC | 37(17,9) | 19(18,4) | 18(17,3) | 0,41 | 1,08 | 0,53-2,20 |
| | TC | 107(51,7) | 57(55,3) | 50(48,1) | | | |
| | TT | 63(30,4) | 27(26,2) | 36(34,6) | | | |
| GDF5 | | | | | | | |
| | CC | 32(15,5) | 22(21,4) | 10(9,6) | 0,04 | 2,55 | 1,14-5,71 |
| | TC | 91(44,0) | 45(43,7) | 46(44,2) | | | |
| | TT | 84(40,6) | 36(35,0) | 48(46,2) | | | |

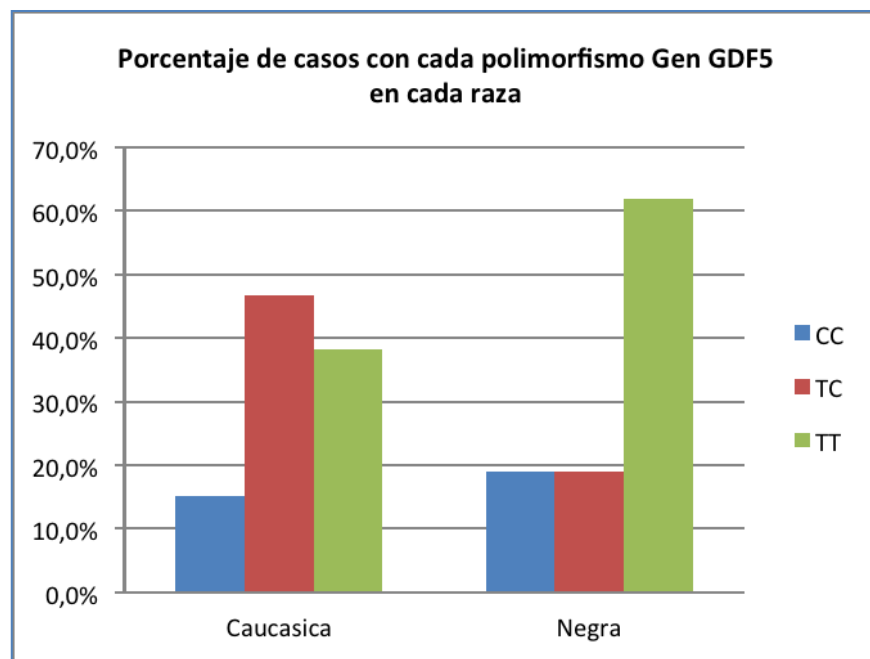


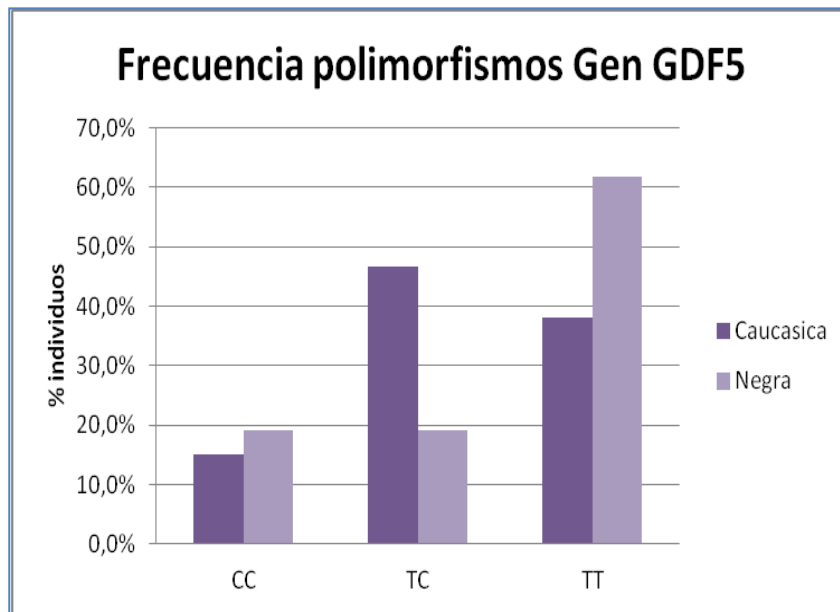
En relación a la raza no hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos de Col1A1, con una mayor frecuencia de homocigotos GG tanto en individuos de raza blanca como en raza negra ($p=0.59$). Sin embargo, existe una diferencia significativa ($p=0.05$) en la distribución de los tres polimorfismos del gen GDF5 en las dos razas en estudio, con una mayor frecuencia de heterocigotos TC en la raza blanca y una mayor frecuencia de homocigotos TT en la raza negra. No hay diferencias significativas en la distribución de los tres polimorfismos del gen Col5A1 en las dos razas en estudio, con mayor frecuencia de heterocigotos TC en ambas ($p=0.38$).

| | | | GEN COL1A1 | | | | P VALOR |
|------|-----------|------------------|------------|--------|-------|---------|---------|
| | | | GG | TG | TT | | |
| RAZA | Caucasica | Recuento | 109 | 68 | 9 | 186 | 0,59 |
| | | % dentro de RAZA | 58,60% | 36,60% | 4,80% | 100,00% | |
| | Negra | Recuento | 13 | 8 | 0 | 21 | |
| | | % dentro de RAZA | 61,90% | 38,10% | 0,00% | 100,00% | |

| | | | GEN GDF5 | | | | P VALOR |
|------|-----------|------------------|----------|--------|--------|---------|---------|
| | | | CC | TC | TT | | |
| RAZA | Caucasica | Recuento | 28 | 87 | 71 | 186 | 0,05 |
| | | % dentro de RAZA | 15,10% | 46,80% | 38,20% | 100,00% | |
| | Negra | Recuento | 4 | 4 | 13 | 21 | |
| | | % dentro de RAZA | 19,00% | 19,00% | 61,90% | 100,00% | |

| | | | GEN COL5A1 | | | | P VALOR |
|------|-----------|------------------|------------|--------|--------|---------|---------|
| | | | CC | TC | TT | | |
| RAZA | Caucasica | Recuento | 31 | 97 | 58 | 186 | 0,38 |
| | | % dentro de RAZA | 16,70% | 52,20% | 31,20% | 100,00% | |
| | Negra | Recuento | 6 | 10 | 5 | 21 | |
| | | % dentro de RAZA | 28,60% | 47,60% | 23,80% | 100,00% | |





En relación al tipo de actividad laboral desempeñada, no hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del gen Col1A1, con una mayor frecuencia de homocigotos GG en todos ellos ($p=0.34$), tanto aquellos que desempeñan esfuerzos físicos intensos para miembros superiores, como los que realizan esfuerzos moderados y leves. No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del gen GDF5 en relación al tipo de actividad laboral. El polimorfismo homocigoto CC mostró una menor frecuencia en los tres grupos. Los pacientes con mayor nivel de actividad física presentan cierta tendencia a ser heterocigotos TC ($p=0.16$). No hay diferencias significativas de los tres polimorfismos del gen Col5A1, y el polimorfismo CC muestra la menor frecuencia en los tres grupos de actividad.

ESFUERZOS FÍSICOS**Col1A1 %**

| GG | TG | TT | Valor p |
|------|------|-----|-------------|
| 59.6 | 35.6 | 4.8 | 0.34 |
| 60 | 20 | 20 | |
| 57.1 | 41.1 | 1.8 | |

*Intensos**Leves**Moderados***GDF5%**

| CC | TC | TT | Valor p |
|------|------|------|-------------|
| 15.8 | 41.1 | 43.2 | 0.16 |
| 0 | 20 | 80 | |
| 16.1 | 53.6 | 30.4 | |

Col5A1 %

| CC | TC | TT | Valor p |
|------|------|------|-------------|
| 19.9 | 49.3 | 3.08 | 0.38 |
| 0 | 40 | 60 | |
| 14.3 | 58.9 | 26.8 | |

En lo relativo al sexo, no hay diferencias entre sexos en la distribución de los tres polimorfismos del gen Col1A1 (**p=0.34**). El polimorfismo GG es el más frecuente y el TT el menos frecuente. Tampoco existen diferencias en GDF5 (**p=0.25**), siendo CC el menos frecuente en ambos grupos. El gen Col5A1 se distribuye de manera homogénea, siendo TC el más frecuente en ambos sexos.

Mujeres

Varones

Col1A1 %

| GG | TG | TT | Valor p |
|-------|-------|------|---------|
| 68.30 | 26.80 | 4.90 | 0.34 |
| 56.60 | 39.20 | 4.20 | |

GDF5%

| CC | TC | TT | Valor p |
|-------|-------|-------|---------|
| 9.80 | 39.0 | 51.20 | 0.25 |
| 16.90 | 45.20 | 38.0 | |

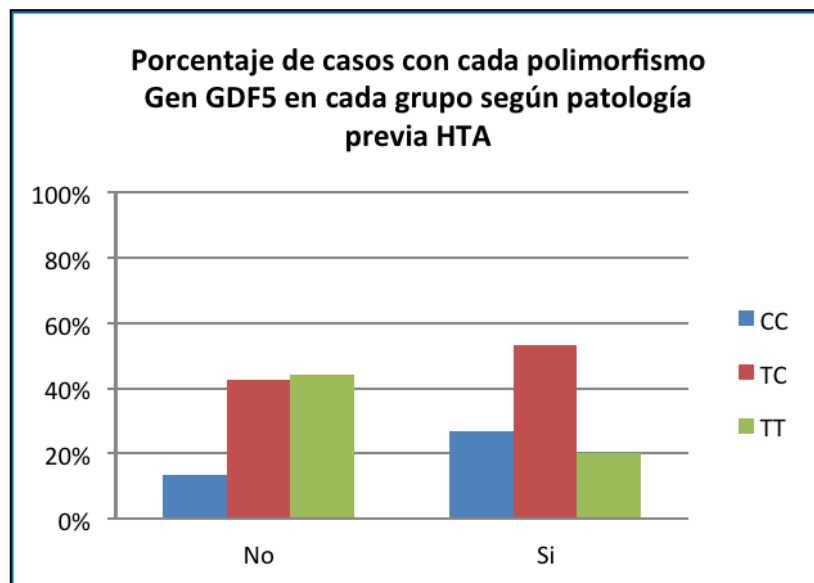
Col5A1 %

| CC | TC | TT | Valor p |
|-------|-------|-------|---------|
| 19.50 | 61.0 | 19.50 | 0.23 |
| 17.50 | 49.40 | 33.10 | |
| | | | |

Existen diferencias significativas **p=0.03**, OR=2.27, IC al 95% (1.003-5.114) en la distribución de los tres polimorfismos en GDF5 entre pacientes con HTA y aquellos que no son hipertensos. En pacientes con HTA es más frecuente el polimorfismo heterocigoto TC y en aquellos no hipertensos el polimorfismo homocigoto TT. Hay diferencia con tendencia significativa en Col5A1 (**p=0.1**), siendo mayor el polimorfismo homocigoto TT en pacientes hipertensos.

| VARIABLES | TOTAL 207 n(%) | CASOS 103 n(%) | CONTROLES 104 n (%) | VALOR p |
|--------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| Diabetes Mellitus | 9 (3.9) | 7(5.9) | 2(1.9) | 0.14 |
| HTA | 30(14.5) | 20(19.4) | 10(9.6) | <0.04 |
| Hiperuricemia | 5 (2.4) | 1(1.0) | 4(3.8) | 0.18 |

PATOLOGÍA SISTÉMICA



Polimorfismos distribuidos en pacientes con HTA. Valor n (%)

| | Col1A1 | | | GDF5 | | | Col5A1 | | |
|---------|-----------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | GG | TG | TT | CC | TC | TT | CC | TC | TT |
| HTA | 20(66,7) | 9(30,0) | 1(3,3) | 8(26,7) | 16(53,3) | 6(20,0) | 6(20,0) | 11(36,7) | 13(43,3) |
| No HTA | 102(57,6) | 67(37,9) | 8 (4,5) | 24(13,6) | 75(42,4) | 78(44,1) | 31(17,5) | 96(54,2) | 50(28,2) |
| Valor p | 0,65 | | | 0,03 | | | 0,1 | | |

No existe diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del gen Col1A1 entre pacientes con antecedentes familiares de patología de manguito de los tendones rotadores del hombro y aquellos que no presentan este tipo de antecedente familiar (**p=0.51**). El más frecuente, sin embargo, es el polimorfismo homocigoto para GG en ambos grupos. Tampoco se evidencian diferencias en el gen GDF5 (**p=0.36**) ni en Col5A1 (**p=0.64**).

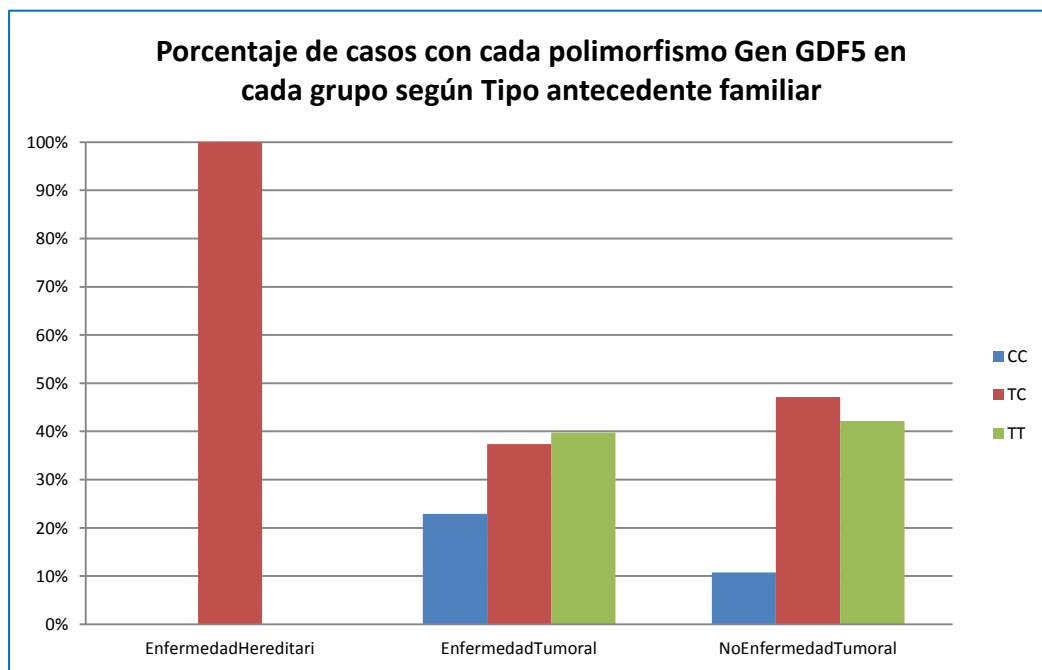
| | Total 207 n(%) | Caso 103 n(%) | Control 104 n (%) |
|-----------------|-------------------|------------------|----------------------|
| AF MANG. | | | |
| SI | 44(21,3) | 19(18,4) | 25(24,0) |
| NO | 163(78,7) | 84(81,6) | 79 (76,0) |

| Col1A1 | | | |
|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | % | p Valor | |
| GG | TG | TT | |
| 57,9 | 34,2 | 7,9 | 0,51 |

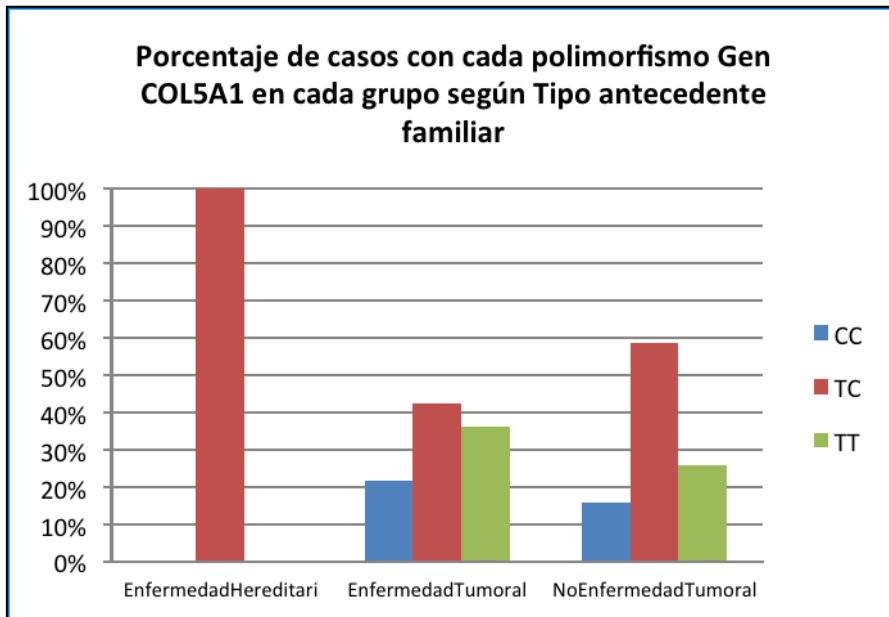
| GDF5 | | | |
|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | % | p Valor | |
| CC | TC | TT | |
| 10,5 | 39,5 | 50 | 0,36 |

| Col5A1 | | | |
|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | % | p Valor | |
| CC | TC | TT | |
| 13,2 | 57,9 | 28,9 | 0,64 |

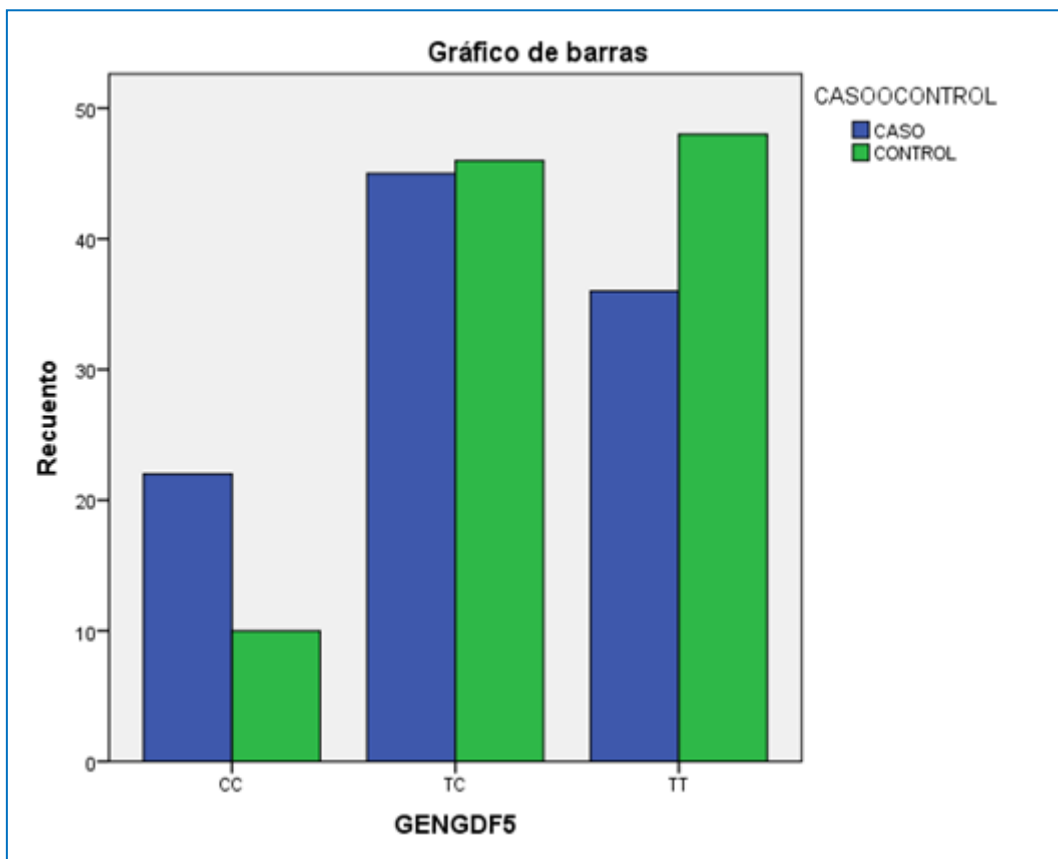
En los antecedentes patológicos familiares se consideraron las enfermedades hereditarias así como los procesos tumorales. No se encontraron diferencias entre los polimorfismos de cada uno de los genes. Sin embargo hay una tendencia a la significación ($p=0.12$) en GDF5 entre los homocigotos CC y TC en el grupo de pacientes con antecedentes de patología tumoral familiar.



En la distribución de los tres polimorfismos de Gen COL5A1, hay una tendencia (**Sig. 0,18**) hacia la significación en la diferencia existente entre CC y TC en los grupos Enfermedad tumoral y No enfermedad tumoral.



En lo referente al gen GDF5 sí se evidenciaron diferencias significativas ($p=0.04$) entre ambos grupos en el polimorfismo homocigoto CC, más frecuente en el grupo de casos.



5.4 Estudio de frecuencias observadas en gen Col1A1, GDF5 y Col5A1 y frecuencias esperadas en los alelos de cada uno de los genes. Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg. Variables de agrupación: raza, sexo, tipo de actividad laboral y antecedentes patológicos familiares.

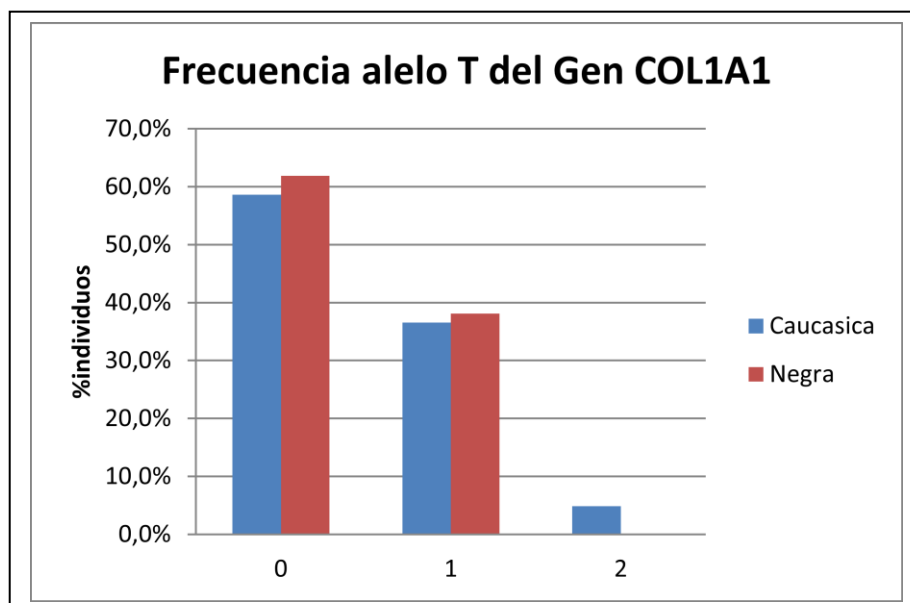
5.4.1 RAZA

5.4.1.1 GEN COL1A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL1A1 en las dos razas en estudio, con mayor frecuencia de homocigotos GG en las dos razas (**Sig. 0,59**).

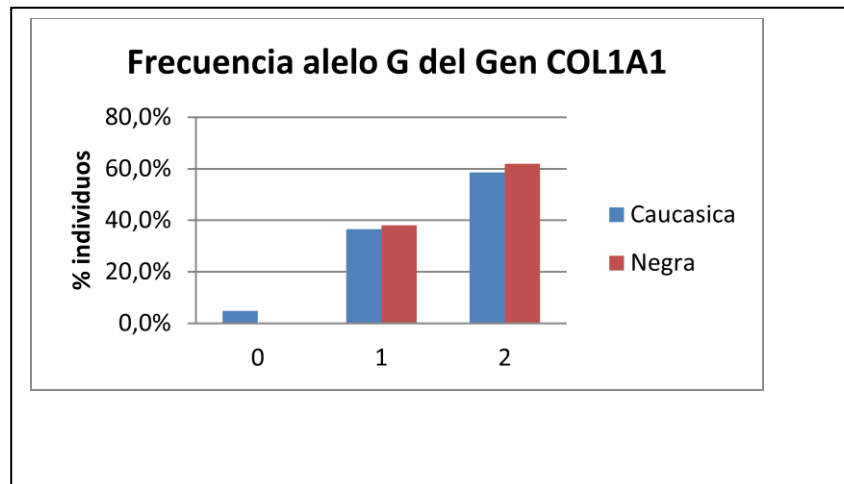
Gen COL1A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias entre razas en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL1A1 (**sig. 0,6**), con más de la mitad de los individuos que no lo contienen, un tercio que contienen 1 alelo T (heterocigotos) y menos del 10% que contienen 2 alelos T (homocigotos). En la raza negra no hay individuos con 2 alelos T.



Gen COL1A1 Frecuencia Alelo G

No hay diferencias entre razas en la frecuencia de aparición del alelo G del Gen COL1A1 (**sig. 0,6**), con más de la mitad de los individuos que contienen 2 alelos, más de un tercio que contienen 1 alelo G y menos del 10% que no contienen alelos G. En la raza Negra no hay individuos que no contengan alelos G.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen COL1A1

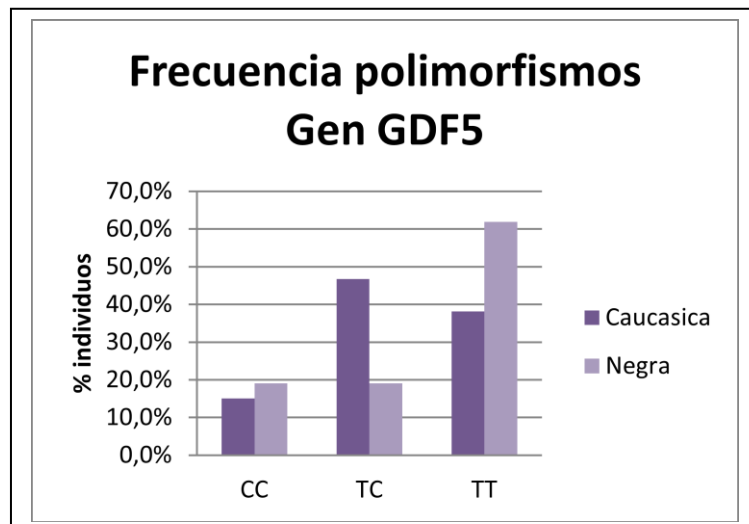
| | GG | TG | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|-------|-------|------|-------------------|
| BLANCA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 109 | 68 | 9 | NS (0,6) |
| Frecuencias Esperadas | 109,9 | 66,12 | 9,9 | |
| NEGRA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 13 | 8 | 0 | NS (0,6) |
| Frecuencias Esperadas | 13,76 | 6,48 | 0,76 | |

No se detectan diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

5.4.1.2 GEN GDF5

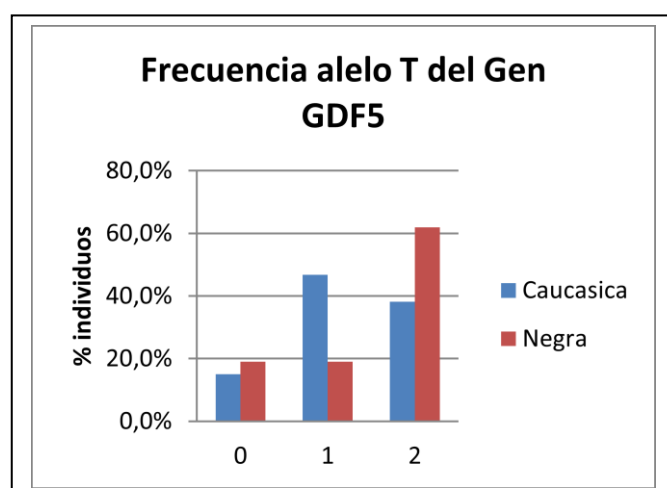
Se ha observado una diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen GDF5 en las dos razas en estudio, con mayor frecuencia de TC en la raza blanca y mayor frecuencia de TT en la raza Negra

(Sig. 0,047).



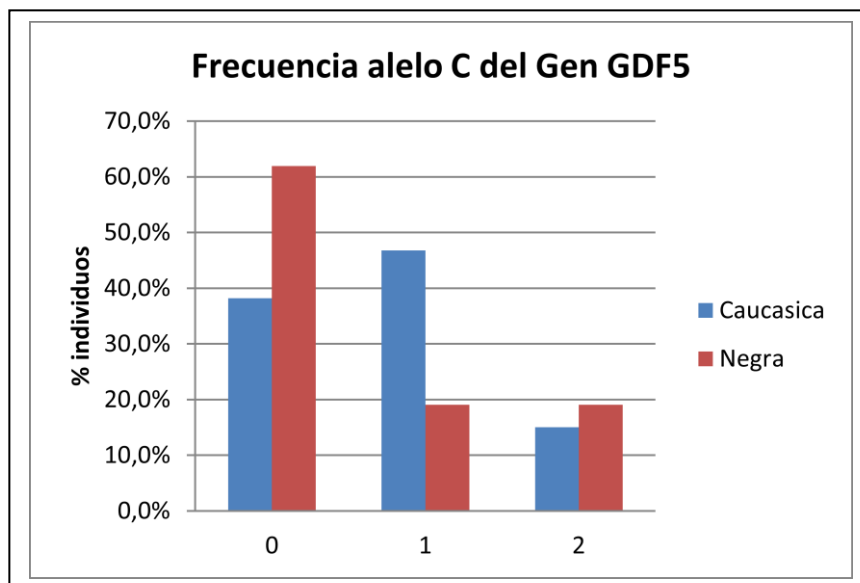
Gen GDF5 Frecuencia Alelo T

Hay diferencias entre razas en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen GDF5 (sig. 0,047), con más de un tercio de los individuos que portan 2 alelos T y casi la mitad que portan 1 alelo T en la raza blanca. En la raza Negra más de la mitad de los individuos portan 2 alelos T.



Gen GDF5 Frecuencia Alelo C

Hay diferencias entre razas en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen GDF5 (sig. **0,047**), con más de un tercio de los individuos que no portan alelos C y casi la mitad que portan 1 alelo C en la raza blanca. En la raza negra más de la mitad de los individuos no porta alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen

GDF5

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|-------|-------|-------|-------------------|
| BLANCA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 28 | 87 | 71 | NS 0,9 |
| Frecuencias Esperadas | 27,48 | 88,03 | 70,48 | |
| NEGRA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 4 | 4 | 13 | SIG. $p < 0,02$ |
| Frecuencias Esperadas | 1,71 | 8,57 | 10,71 | |

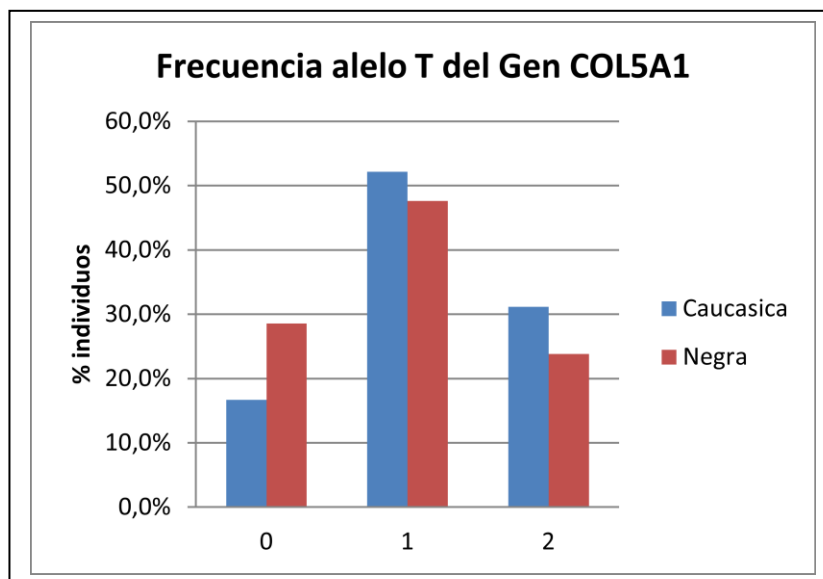
No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en la raza blanca, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg. En cambio se detectan diferencias significativas entre las frecuencias observadas y esperadas en la raza negra ($p < 0,02$) lo que indica que las frecuencias genotípicas no se encuentran en equilibrio Hardy Weinberg en este grupo para este Gen estudiado.

5.4.1.3 Gen COL5A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL5A1 en las dos razas en estudio, con mayor frecuencia de TC en las dos razas (**Sig. 0,38**).

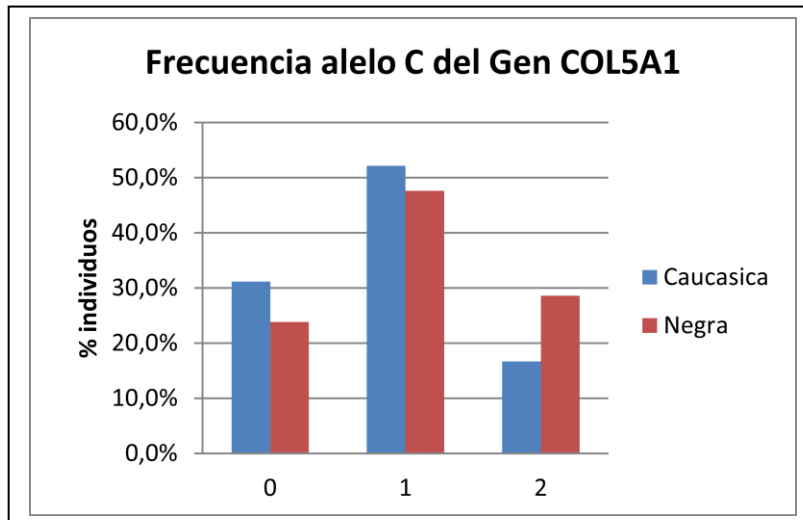
Gen COL5A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre razas en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL5A1 (**sig. 0,38**), con alrededor de la mitad de los individuos que contienen 1 alelo T, alrededor de un tercio que contienen 2 alelos T y menos de un tercio que no contienen alelos T.



Gen COL5A1 Frecuencia Alelo C

No hay diferencias significativas entre razas en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen COL5A1 (**sig. 0,38**), con alrededor de la mitad de los individuos que contienen 1 alelo C, alrededor de un tercio que no contienen alelos T y menos de un tercio que contienen 2 alelos T



| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|-------|-------|-------------------|
| BLANCA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 31 | 97 | 58 | NS 0,5 |
| Frecuencias Esperadas | 33,9 | 91,04 | 60,97 | |
| NEGRA | | | | |
| Frecuencias Observadas | 6 | 10 | 5 | NS 0,5 |
| Frecuencias Esperadas | 5,76 | 10,46 | 4,76 | |

Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen COL5A1

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en las dos razas estudiadas, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

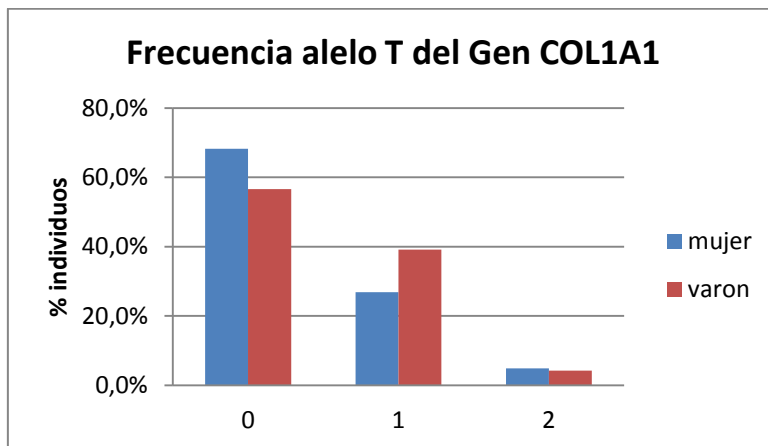
5.4.2 SEXO

GEN COL1A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL1A1 en los dos sexos en estudio, con mayor frecuencia de GG, encontrándose en más de la mitad de los individuos, presencia de TG en un tercio aproximado y de TT en menos del 5% de la muestra (**Sig. 0,34**).

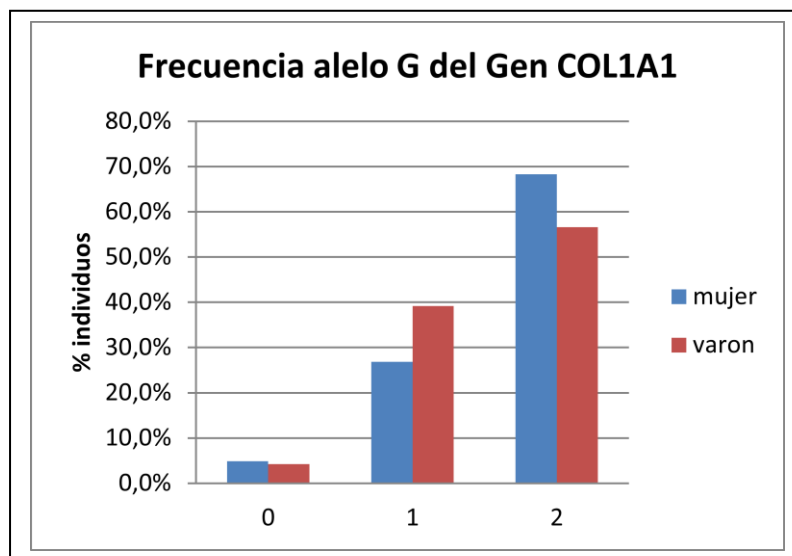
GEN COL1A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL1A1 (**sig. 0,34**), con más de la mitad de los individuos que no contienen alelo T, alrededor de un tercio que contienen 1 alelo T y menos de un 5% que contienen 2 alelos T.



GEN COL1A1 Frecuencia Alelo G

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo G del Gen COL1A1 (**sig. 0,34**), con más de la mitad de los individuos que contienen 2 alelos G, alrededor de un tercio que contienen 1 alelo G y menos de un 5% que no contienen alelos G.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen

COL1A1

| | GG | TG | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|-------|-------|------|-------------------|
| MUJER | | | | |
| Frecuencias Observadas | 28 | 11 | 2 | NS 0,37 |
| Frecuencias Esperadas | 27,37 | 12,25 | 1,37 | |
| VARÓN | | | | |
| Frecuencias Observadas | 94 | 65 | 7 | NS 0,37 |
| Frecuencias Esperadas | 96,4 | 60,2 | 9,4 | |

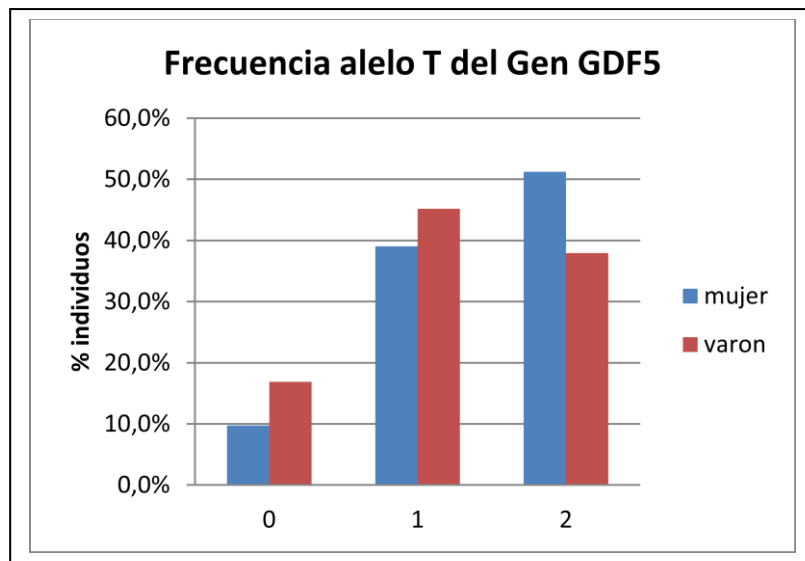
No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en ambos sexos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

GEN GDF5

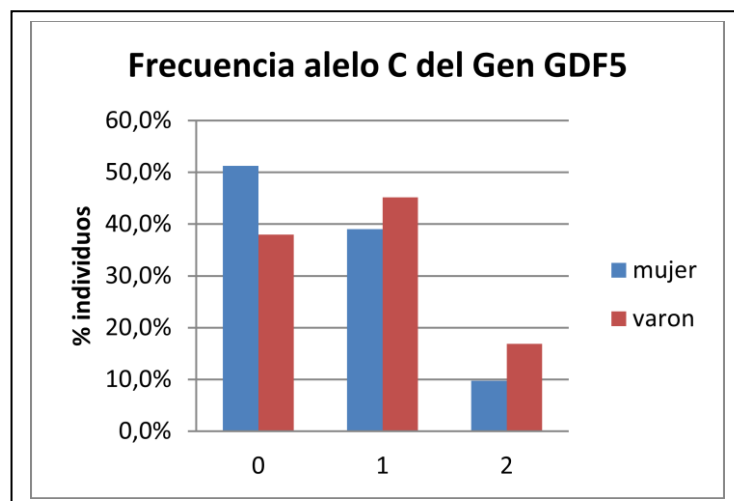
No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen GDF5 en los dos sexos en estudio, con una frecuencia similar de TT y TC en 40-50% de los individuos, y de CC en menos del 15% de la muestra (**Sig. 0,25**).

GEN GDF5 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen GDF5 (**sig. 0,25**), con un 40- 50% de los individuos que contienen 2 alelos T, alrededor del 40% que contienen 1 alelo T y menos de un 15% que no contienen alelos T.

**GEN GDF5 Frecuencia Alelo C**

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen GDF5 (**sig. 0,25**), con un 40- 50% de los individuos que no contienen alelos C, alrededor del 40% que contienen 1 alelo C y menos de un 15% que contienen 2 alelos T.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen

GDF5

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|-------------------|
| MUJER | | | | |
| Frecuencias Observadas | 4 | 16 | 21 | NS 0,7 |
| Frecuencias Esperadas | 3,5 | 16,9 | 20,5 | |
| VARÓN | | | | |
| Frecuencias Observadas | 28 | 75 | 63 | NS 0,5 |
| Frecuencias Esperadas | 25,8 | 79,3 | 60,8 | |

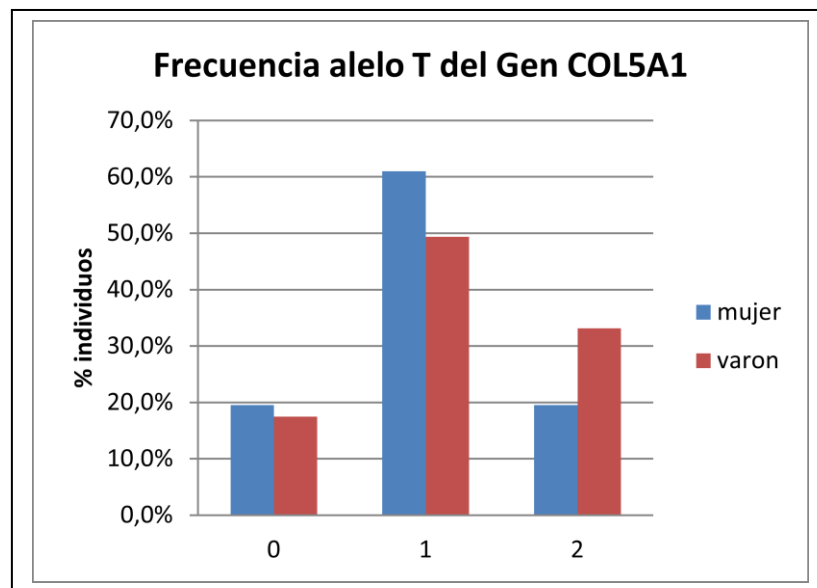
No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en ambos sexos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

GEN COL5A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL5A1 en los dos sexos en estudio, con la mitad o algo más de la mitad de los casos que portan TC, entre 20 y 30% con TT y menos del 20% que portan CC (**Sig. 0,23**)

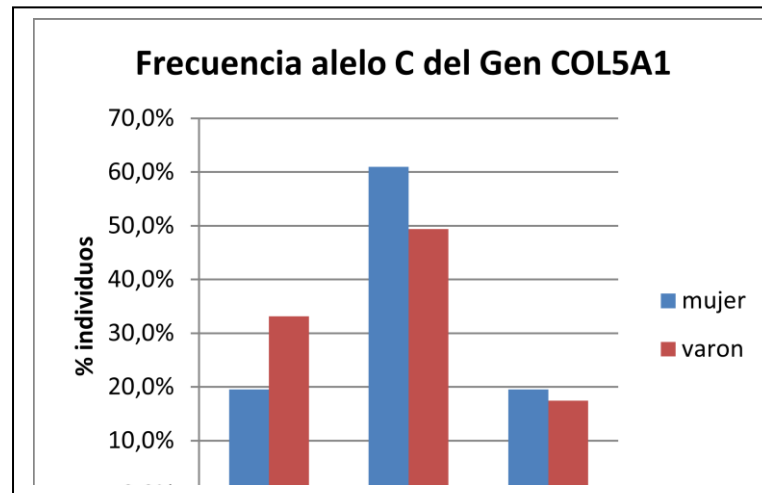
GEN COL5A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL5A1 (**sig. 0,23**), con un 50- 60% de los individuos que contienen 1 alelo T, un 20-30% que contienen 2 alelos T y menos de un 20% que no contienen alelos T.

**GEN COL5A1 Frecuencia Alelo C**

No hay diferencias significativas entre sexos en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen COL5A1 (**sig. 0,23**), con un 50-60% de los individuos que

contienen 1 alelo C, un 20-30% que no contienen alelos C y menos de un 20% que contienen 2 alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen COL5A1

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|-------------------|
| MUJER | | | | |
| Frecuencias Observadas | 8 | 25 | 8 | NS 0,23 |
| Frecuencias Esperadas | 10,2 | 20,5 | 10,2 | |
| VARÓN | | | | |
| Frecuencias Observadas | 29 | 82 | 55 | NS 0,9 |
| Frecuencias Esperadas | 29,5 | 80,9 | 55,5 | |

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en ambos sexos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

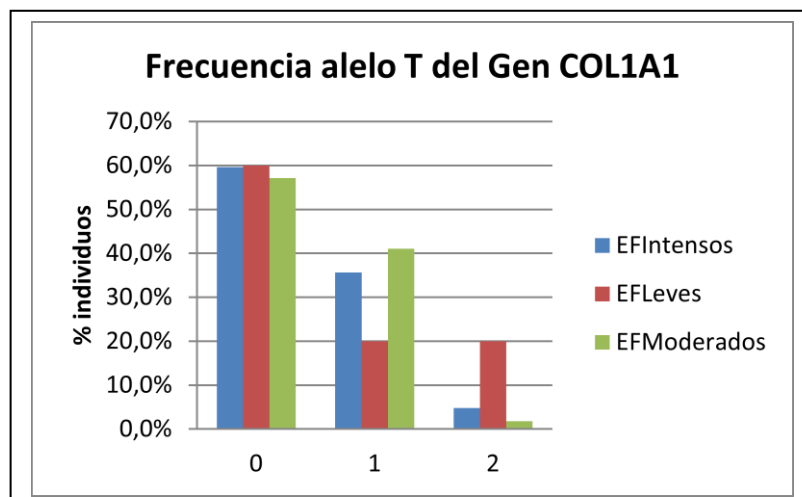
5.4.3 TIPO ACTIVIDAD LABORAL

GEN COL1A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL1A1 en los tres tipos de actividad laboral en estudio, con mayor frecuencia de GG (se halla en más de la mitad de los individuos), presencia de TG en un tercio aproximado y de TT en menos del 5% de la muestra, excepto en caso de EF Leves que supone el 20% de la muestra (**Sig. 0,34**).

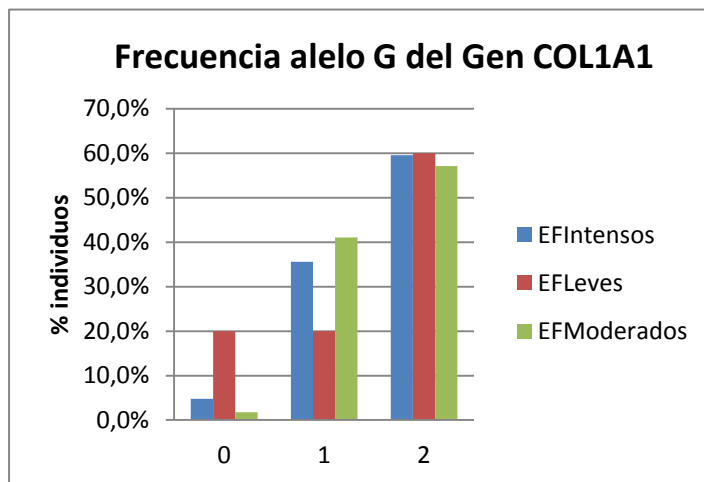
GEN COL1A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL1A1 (**sig. 0,34**), con más de la mitad de los individuos que no contienen alelo T, alrededor de un tercio de EF Intensos y EF Moderados y el 20 % de los EF Leves que contienen 1 alelo T y menos de un 5% de de EF Intensos y EF Moderados y el 20 % de los EF leves que contienen 2 alelos T. La existencia de pocos casos en el grupo EF Leves probablemente no permita detectar diferencias significativas



GEN COL1A1 Frecuencia Alelo G

No hay diferencias significativas entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo G del Gen COL1A1 (**sig. 0,34**), con más de la mitad de los individuos que contienen 2 alelos G, alrededor de un tercio de EF Intensos y EF Moderados y el 20 % de los EF Leves que contienen 1 alelo G y menos de un 5% de de EF Intensos y EF Moderados y el 20 % de los EF Leves que contienen 0 alelos T. La existencia de pocos casos en el grupo EF Leves probablemente no permita detectar diferencias significativas.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen

COL1A1

| | GG | TG | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|-------------------|
| EF Intensos | | | | |
| Frecuencias Observadas | 87 | 52 | 7 | NS 0,9 |
| Frecuencias Esperadas | 87,4 | 51,1 | 7,4 | |
| EF Leves | | | | |
| Frecuencias Observadas | 3 | 1 | 1 | NS 0,25 |
| Frecuencias Esperadas | 2,4 | 2,1 | 0,45 | |
| EF Moderados | | | | |
| Frecuencias Observadas | 32 | 23 | 1 | NS 0,20 |
| Frecuencias Esperadas | 33,8 | 19,4 | 2,8 | |

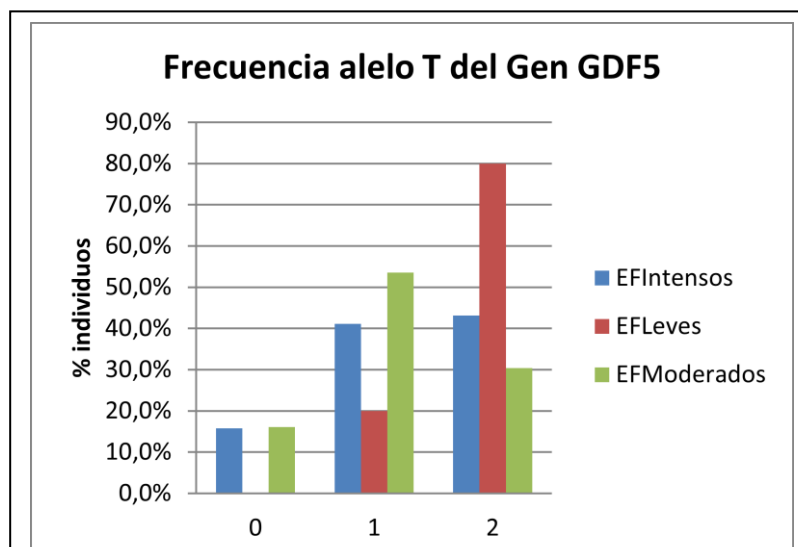
No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los tres grupos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

GEN GDF5

No hay diferencia significativa, aunque existe una tendencia a la significación, en la distribución de los tres polimorfismos del Gen GDF5 en los tres tipos de actividad laboral en estudio, con mayor frecuencia de TT, en EF Intensos y Leves, y mayor frecuencia de TC en EF Moderados. El polimorfismo CC es el menos frecuente en los tres grupos **(Sig. 0,16)**.

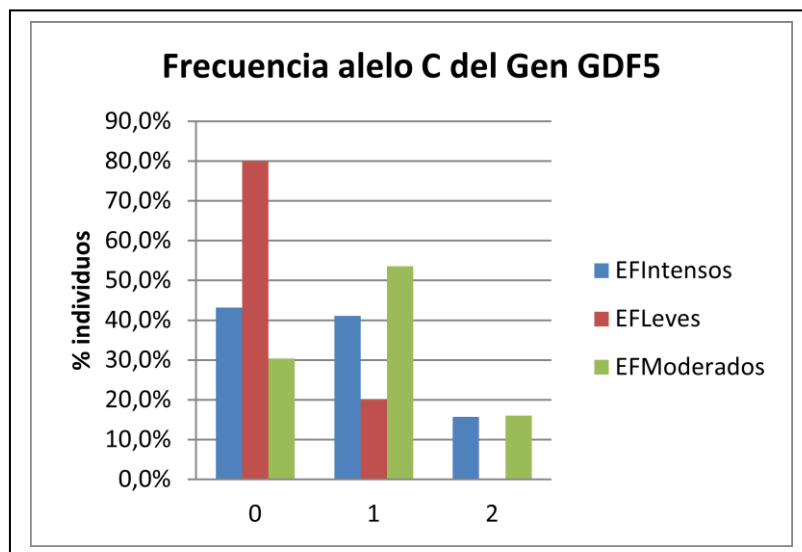
GEN GDF5 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas, aunque existe una tendencia hacia la significación entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen GDF5 **(sig. 0,16)**. La mayoría de los individuos de los grupos EF Intensos y Leves contienen dos alelos T y la mayoría de los individuos del grupo EF Moderados contiene 1 alelo T. En los tres grupos hay una baja frecuencia de individuos con 0 alelos T.



GEN GDF5 Frecuencia Alelo C

No hay diferencias significativas, aunque existe una tendencia hacia la significación entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen GDF5 (sig. **0,16**). La mayoría de los individuos de los grupos EF Intensos y Leves no contienen alelos C y la mayoría de los individuos del grupo EF Moderados contiene 1 alelo C. En los tres grupos hay una baja frecuencia de individuos con 2 alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen GDF5

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|-------------------|
| EF Intensos | | | | |
| Frecuencias Observadas | 23 | 60 | 63 | NS 0,15 |
| Frecuencias Esperadas | 19,2 | 67,5 | 59,2 | |
| EF Leves | | | | |
| Frecuencias Observadas | 0 | 1 | 4 | NS 0,9 |
| Frecuencias Esperadas | 0,05 | 0,9 | 4,05 | |
| EF Moderados | | | | |
| Frecuencias Observadas | 9 | 30 | 17 | NS 0,5 |
| Frecuencias Esperadas | 10,3 | 27,4 | 18,3 | |

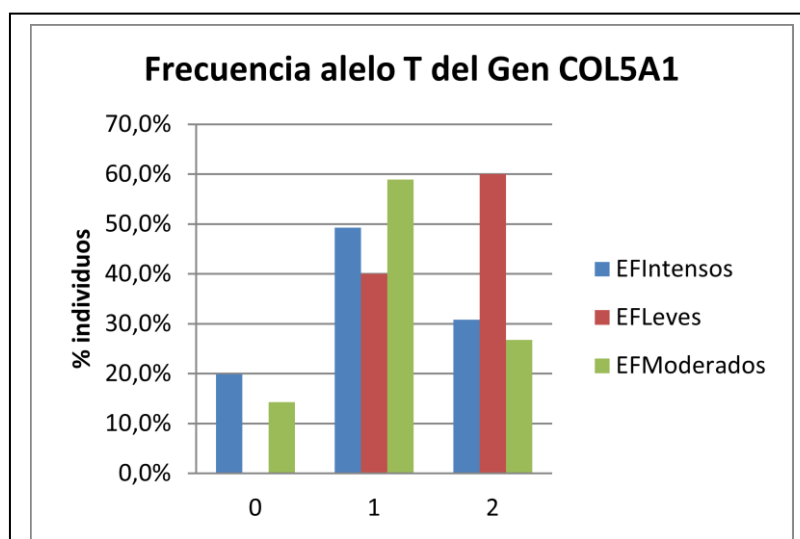
No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los tres grupos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg. No obstante se observó una tendencia a la significación (sig. **0,16**) en el grupo EF Intensos.

GEN COL5A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL5A1 en los tres tipos de actividad laboral en estudio, aunque se observa mayor frecuencia de TT, en EF Leves, y mayor frecuencia de TC en EF Intensos y Moderados. El polimorfismo CC es el menos frecuente en los tres grupos EF (**Sig. 0,37**).

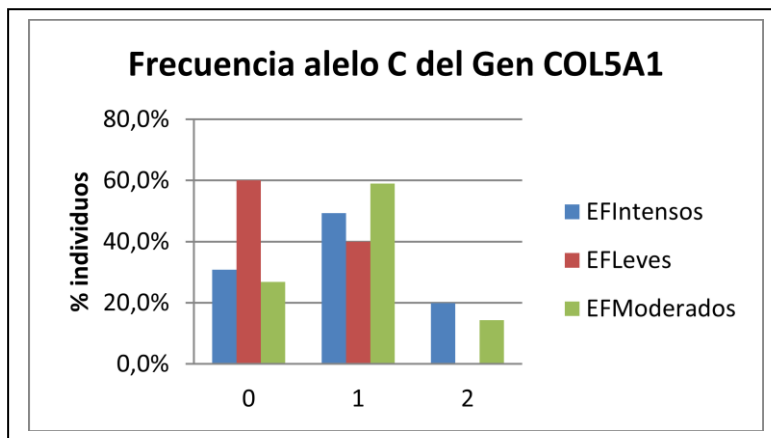
GEN COL5A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL5A1 (**sig. 0,37**). La distribución parece diferente en el grupo EF Leves pero debido al poco número de datos esta diferencia no se considera significativa. La mayoría de los individuos del grupo EF Leves contiene dos alelos T y la mayoría de los individuos de los grupos EF Intensos y Moderados contiene 1 alelo T. En los tres grupos hay una baja frecuencia de individuos con 0 alelos T.



GEN COL5A1 Frecuencia Alelo C

No hay diferencias significativas entre tipos de actividad laboral en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen COL5A1 (**sig. 0,37**). La distribución parece diferente en el grupo EF Leves pero debido al poco número de datos esta diferencia no se considera significativa. La mayoría de los individuos del grupo EF Leves contiene 0 alelos C y la mayoría de los individuos de los grupos EF Intensos y Moderados contiene 1 alelo C. En los tres grupos hay una baja frecuencia de individuos con 2 alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen COL5A1

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|-------------------|
| EF Intensos | | | | |
| Frecuencias Observadas | 29 | 72 | 45 | NS 0,97 |
| Frecuencias Esperadas | 28,9 | 72,1 | 44,9 | |
| EF Leves | | | | |
| Frecuencias Observadas | 0 | 2 | 3 | NS 0,5 |
| Frecuencias Esperadas | 0,2 | 1,6 | 3,2 | |
| EF Moderados | | | | |
| Frecuencias Observadas | 8 | 33 | 15 | NS 0,1 |
| Frecuencias Esperadas | 10,7 | 27,6 | 17,7 | |

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los tres grupos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg. No obstante se observó una tendencia a la significación (sig. **0,1**) en el grupo EF Moderados.

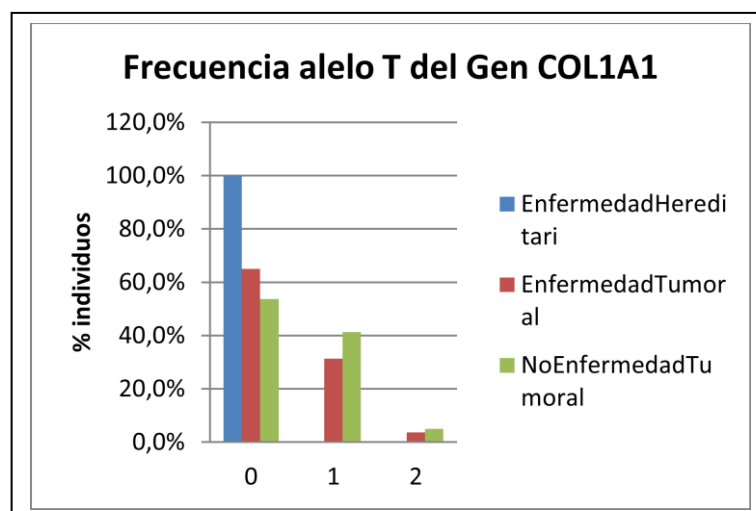
5.4.4 TIPO ANTECEDENTE FAMILIAR

GEN COL1A1

No hay diferencia significativa en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL1A1 en los tres tipos de antecedente familiar en estudio, con mayor frecuencia de GG (en más de la mitad de los individuos) (en el caso del grupo Enf. Hereditaria el 100%). En los grupos Enf. Tumoral y No tumoral, hay presencia de TG en un tercio aproximado y de TT en menos del 5% de la muestra (**Sig. 0,39**)

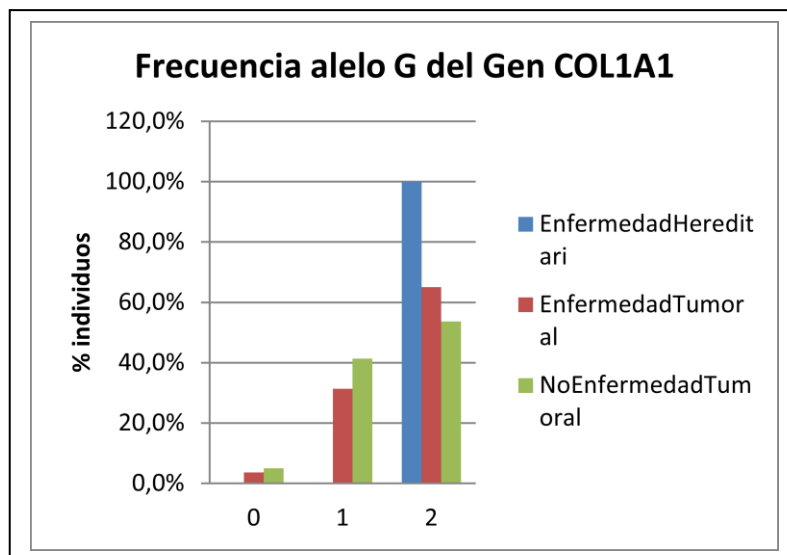
GEN COL1A1 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL1A1 (**sig. 0,39**). La mayoría de los individuos de los tres grupos portan 0 alelos T. En los grupos Enf.Tumoral y No tumoral hay una baja frecuencia de individuos con 2 alelos T y alrededor de un tercio contienen 1 alelo T



GEN COL1A1 Frecuencia Alelo G

No hay diferencias significativas, entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo G del Gen COL1A1 (**sig. 0,38**). La mayoría de los individuos de los tres grupos portan 2 alelos G. En los grupos Enf. Tumoral y No tumoral hay una baja frecuencia de individuos con 0 alelos G y alrededor de un tercio contienen 1 alelo G.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen

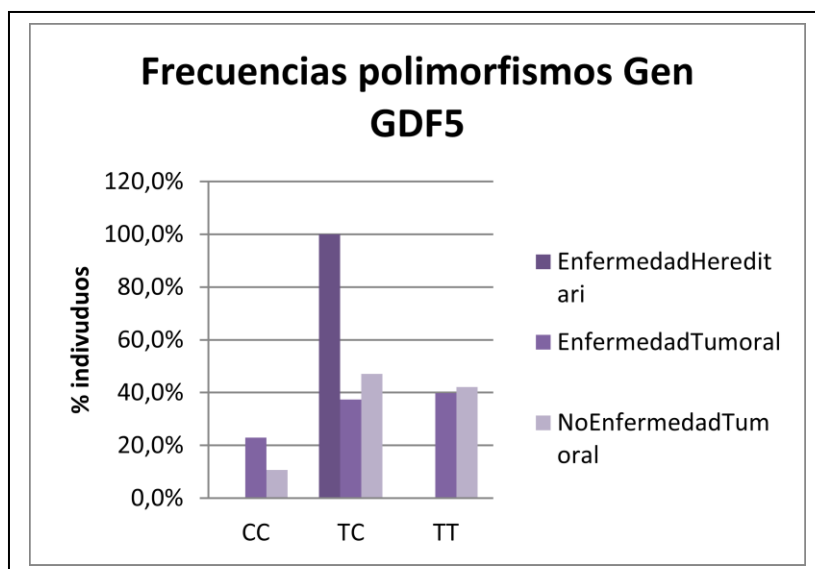
COL1A1

| | GG | TG | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|-----|-------------------|
| Enfermedad hereditaria | | | | |
| Frecuencias Observadas | 1 | 0 | 0 | No hay diferencia |
| Frecuencias Esperadas | 1 | 0 | 0 | |
| Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 54 | 26 | 3 | NS 0,95 |
| Frecuencias Esperadas | 54,1 | 25,8 | 3,1 | |
| No Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 65 | 50 | 6 | NS 0,37 |
| Frecuencias Esperadas | 66,9 | 46,1 | 7,9 | |

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los tres grupos, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

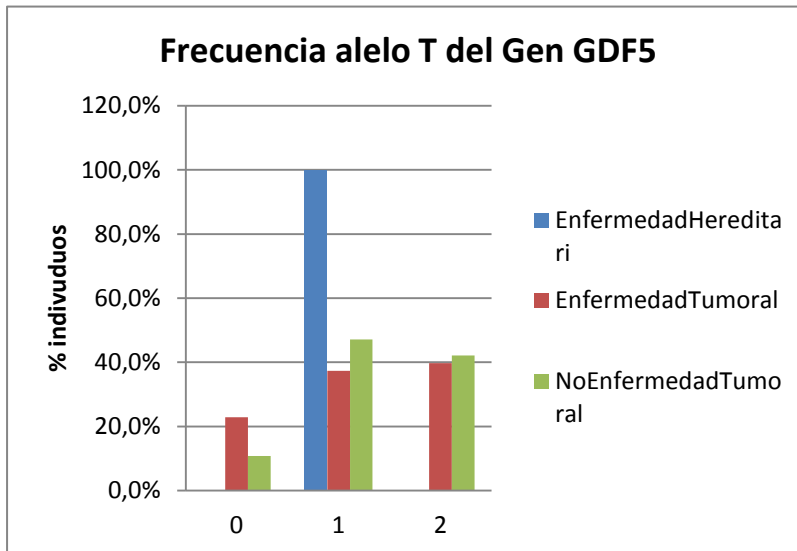
GEN GDF5

No hay diferencia significativa, aunque hay una tendencia a la significación, en la distribución de los tres polimorfismos del Gen GDF5 en los tres tipos de antecedente familiar en estudio. Se observa mayor frecuencia de TC en más de la mitad de los individuos en el grupo No enf. tumoral y en todos los casos del grupo Enf. Hereditaria. En el grupo Enf. Tumoral hay presencia de TC y TT en un tercio aproximado de la muestra. La frecuencia de CC es baja, menor en los grupos Enf. Tumoral y No enf. tumoral (Sig. **0,12**).



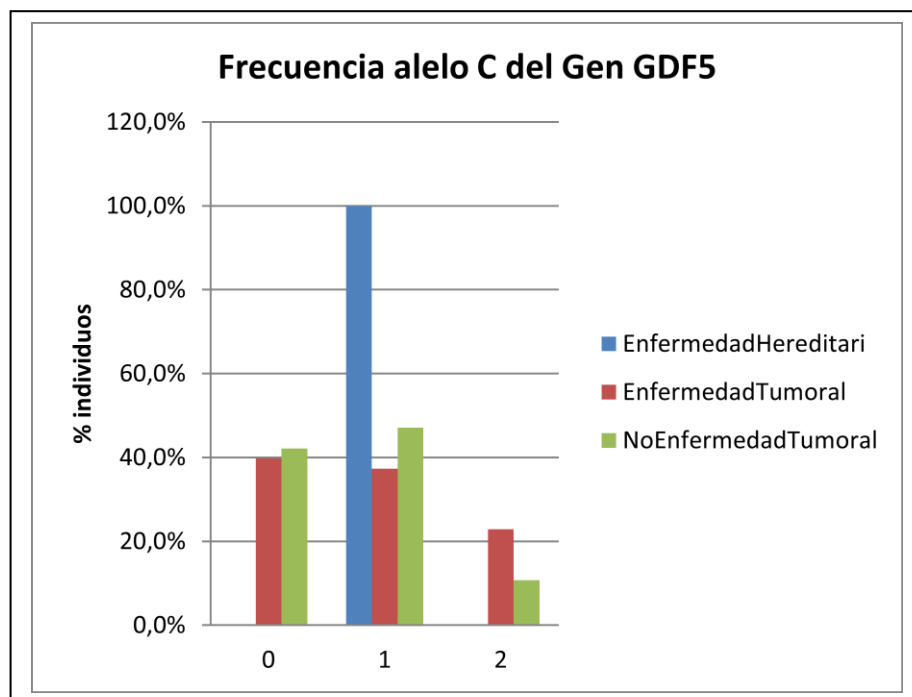
GEN GDF5 Frecuencia Alelo T

No hay diferencias significativas entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen GDF5, aunque hay una tendencia hacia la significación ($p=0,12$). Alrededor de un tercio de los individuos (37-47%) de los grupos Enf. tumoral y No enf. tumoral portan 1 o 2 alelos T. Todos los individuos del grupo Enf. Hereditaria portan 1 alelo T. En los grupos Enf. tumoral y No enf. tumoral hay una baja frecuencia de individuos con 0 alelos T.



GEN GDF5 Frecuencia Alelo C

No hay diferencias significativas entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen GDF5, aunque hay una tendencia hacia la significación ($p=0,12$). Alrededor de un tercio de los individuos (37-47%) de los grupos Enf. tumoral y No enf. tumoral portan 0 o 1 alelos C. Todos los individuos del grupo Enf. Hereditaria portan 1 alelo C. En los grupos Enf. tumoral y No enf. tumoral hay una baja frecuencia de individuos con 2 alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen GDF5

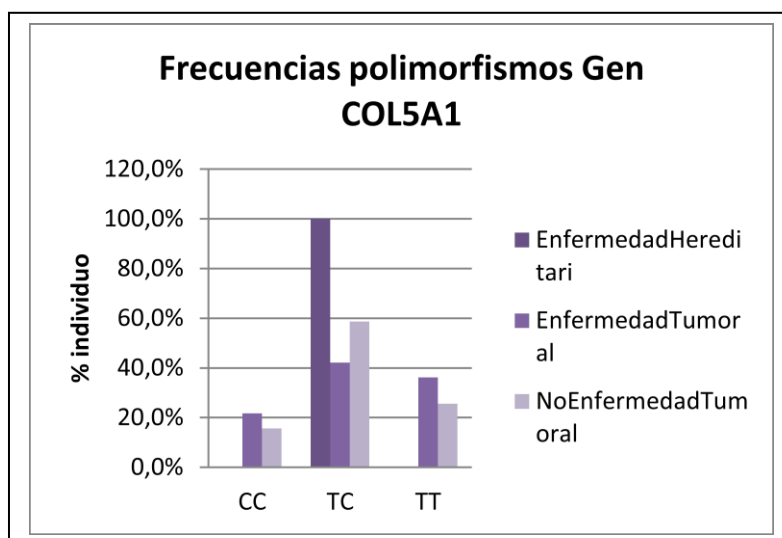
| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|------------------------|
| Enfermedad hereditaria | | | | |
| Frecuencias Observadas | 0 | 1 | 0 | NS 0,25 |
| Frecuencias Esperadas | 0,25 | 0,5 | 0,25 | |
| Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 19 | 31 | 33 | Significativo 0,037 |
| Frecuencias Esperadas | 14,3 | 40,3 | 28,3 | |
| No Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 13 | 57 | 51 | NS 0,6 |
| Frecuencias Esperadas | 14,2 | 54,2 | 52,2 | |

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los grupos Enf. Hereditaria y No enf. tumoral, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

En cambio, en el grupo Enf. tumoral se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas (**Sig. 0,037**).

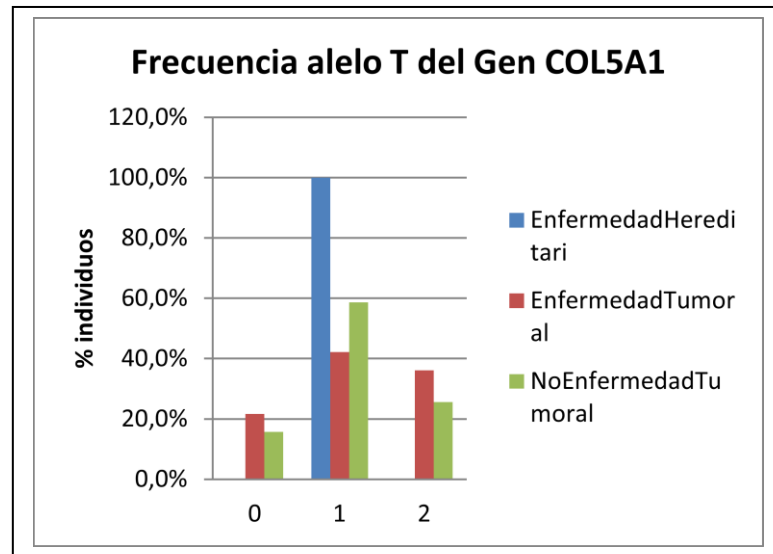
GEN COL5A1

No hay diferencia significativa, aunque hay una tendencia a la significación, en la distribución de los tres polimorfismos del Gen COL5A1 en los tres tipos de antecedente familiar en estudio. Se observa mayor frecuencia de TC en más de la mitad de los individuos en el grupo No enf. tumoral y en todos los casos del grupo Enf. Hereditaria. En el grupo Enf. Tumoral hay presencia de TC y TT en algo más de un tercio de la muestra. La frecuencia de CC es menor de en los grupos Enf. Tumoral y No enf. tumoral (**Sig. 0,16**).

**GEN COL5A1 Frecuencia Alelo T**

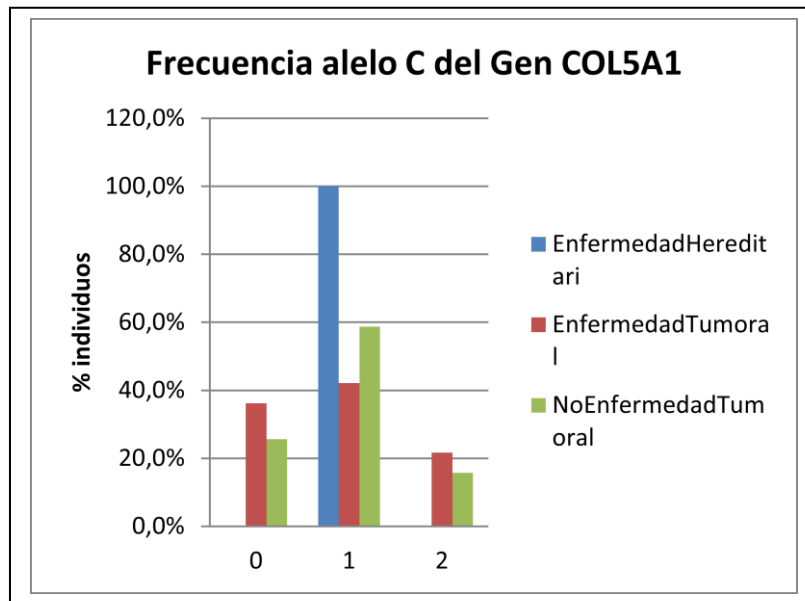
No hay diferencias significativas entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo T del Gen COL5A1, aunque hay una tendencia hacia la significación (**sig. 0,16**). Alrededor de un tercio de los

individuos (36-42%) del grupo Enf. tumoral portan 1 o 2 alelos T. Todos los individuos del grupo Enf. Hereditaria portan 1 alelo T. En el grupo No enf. tumoral más de la mitad de los casos portan 1 alelo T y la cuarta parte 2 alelos T.



GEN COL5A1 Frecuencia Alelo C

No hay diferencias significativas entre tipos de antecedente familiar en la frecuencia de aparición del alelo C del Gen COL5A1, aunque hay una tendencia hacia la significación (**sig. 0,16**). La mayoría de los individuos del grupo No enf. tumoral portan 1 alelo C y un cuarto no portan alelos C. Todos los individuos del grupo Enf. Hereditaria portan 1 alelo C. Alrededor de un tercio de los casos de Enf. tumoral portan 0 o 1 alelo C y un quinto portan 2 alelos C.



Estudio del equilibrio Hardy-Weinberg en las frecuencias alélicas Gen COL5A1

| | CC | TC | TT | Sig. Chi cuadrado |
|------------------------|------|------|------|---------------------|
| Enfermedad hereditaria | | | | |
| Frecuencias Observadas | 0 | 1 | 0 | NS 0,25 |
| Frecuencias Esperadas | 0,25 | 0,5 | 0,25 | |
| Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 18 | 35 | 30 | NS 0,2 |
| Frecuencias Esperadas | 15,2 | 40,6 | 27,2 | |
| No Enfermedad tumoral | | | | |
| Frecuencias Observadas | 19 | 71 | 31 | Significativo 0,033 |
| Frecuencias Esperadas | 24,5 | 59,9 | 36,5 | |

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas en los grupos Enf. Hereditaria y Enf. tumoral, lo que indica que las frecuencias genotípicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

En cambio, en el grupo No enf. tumoral se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas observadas y esperadas **(Sig. 0,037)**.

6. DISCUSIÓN

Aproximadamente el 99.9% de la secuencia del DNA de dos individuos diferentes es la misma. Una proporción significativa de las diferencias encontradas en los individuos, es decir, sus diferencias fenotípicas y/o susceptibilidad a ciertas enfermedades, radica en el 0.1% de variación; a este tipo de variaciones genéticas se les conoce como polimorfismos genéticos, los cuales representan diferentes formas en las secuencias de DNA. El estudio de estas variaciones tiene diversas aplicaciones en el campo de la medicina así como en el desarrollo de investigaciones biológicas y de evolución.

Proceso degenerativo de los tendones del manguito rotador del hombro:

Muchos autores han defendido como causa principal de la degeneración tendinosa, el envejecimiento (55,56). Las fibras del tendón se van debilitando, al igual que cualquier otro tejido de características conectivas del organismo, con el desuso y el envejecimiento. Las fibras se hacen cada vez más débiles y se necesita una fuerza menor para romperlas. Lohr et. al (57), calcularon que en las actividades normales de la vida diaria, la fuerza que se transmite a través del tendón del manguito es de 140 N a 200 N. En piezas tendinosas obtenidas de personas de 60 a 79 años, la carga tensil del supraespinoso puede alcanzar de 600 N a 800 N según Itoi et. al (58). La existencia de una degeneración primaria por envejecimiento del tendón y que se manifestaba con depósitos cálcicos, engrosamiento fibrinoide, cambios en la disposición celular, degeneración grasa (59), necrosis y desgarros quedó reflejado por Petterson (19) tras una exhaustiva revisión de los estudios de investigación de Loschke, Wrede, Codman, Schaer, Wells y Glatthaar.

Afirmó que: *los cambios degenerativos de la aponeurosis tendinosa de la articulación del hombro, excepto la calcificación y la rotura, no generan síntomas según la información disponible. Por otra parte, la potencia tensil y la elasticidad de la aponeurosis tendinosa que muestran las lesiones degenerativas son sin duda menores que las observadas en la aponeurosis tendinosa normal.* En la presente Tesis Doctoral, la diferencia significativa en relación a las medias de edad entre pacientes con lesiones de manguito rotador del hombro pone de manifiesto la correlación clara entre la edad del paciente y la presencia de lesión. La edad es un factor que, estadísticamente, aparece fuertemente ligado a sufrir estas lesiones en la población estudiada.

Efecto de la actividad físico-laboral en las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro

En la serie que se presenta, practicar actividades deportivas que impliquen el uso de los miembros superiores no supone un riesgo adicional a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, ya que los pacientes que los practican habitualmente son más jóvenes. Ha sido importante la medición de esta variable, pues la práctica de ejercicio físico a intensidades elevadas provoca daño tisular debido, en gran medida, a microtraumatismos repetidos y en el aumento de la producción de radicales libres como consecuencia del incremento del consumo de oxígeno (60). Estos procesos ocasionan daño oxidativo celular dada la incapacidad de adaptación de los mecanismos antioxidantes fisiológicos, especialmente cuando las intensidades del esfuerzo superan las del umbral anaeróbico. El daño oxidativo tiene especial repercusión sobre la producción de energía y los mecanismos de reparación tisular, debidos a daños en la membrana celular y en el DNA mitocondriales (61). Cuando estos

procesos se perpetúan dan lugar a un verdadero proceso inflamatorio crónico con repercusiones a nivel del sistema músculo-esquelético. (62)

Conceptualmente las actividades físicas de carácter anaeróbico son aquellas que requieren de una gran cantidad de energía metabólica para satisfacer las necesidades del organismo frente a actividades que impliquen grandes cantidades de fuerza. Las actividades aeróbicas, por el contrario, son de intensidad física menor. En el momento actual no existe ninguna clasificación que determine el grado de actividad aeróbica o anaeróbica que implica el desempeñar una determinada actividad laboral. Sólo se reconoce la evaluación de riesgos para una gestión activa de la seguridad y la salud en el trabajo, según la Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales, que traspone la Directiva Marco 89/391/ CEE a la hora de elegir los equipos de trabajo, sustancias o preparados químicos y del acondicionamiento de los lugares de trabajo.

Hasta la realización de esta Tesis Doctoral, no se había estudiado la posibilidad de que los polimorfismos en los genes Col1A1, GDF5 y Col5A1 contribuyeran en la patogenia de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro en una población atendida por accidentes laborales. Los estudios realizados hasta el momento se han llevado a cabo sólo en poblaciones de deportistas profesionales (*Khoschnau -2008*).

Pruna et al. (63) estudió las lesiones musculo-esqueléticas producidas por el mecanismo de no contacto en una población deportiva de élite. Se analizaron 73 jugadores de fútbol profesional de diferentes razas (caucasianos, africanos subsaharianos e hispánicos) y las lesiones sufridas durante tres temporadas consecutivas. Sólo se analizaron los polimorfismos de un solo nucleótido en

dos genes: ELN e IGF2. El gen ELN codifica la proteína elastina. Forma parte del tejido conectivo, proporcionando elasticidad tisular. En la presente Tesis Doctoral, sin embargo, se han analizado genes relacionados con la producción y reparación del colágeno. El componente histológico fundamental en el tendón es el tejido conjuntivo de características densas, es decir, las fibras de colágeno que constituyen el 99% del peso seco de un tendón de las extremidades del organismo. La elastina se encuentra en mucha menor cantidad (64-65), casi el 3%. Por otra parte, el gen IGF2 es responsable de la producción del factor de crecimiento insulínico tipo 2. Según últimos estudios (66), el papel fisiológico más importante a nivel celular recae sobre el tejido nervioso en procesos de memoria y desarrollo cognitivo.

Pruna et al. analizan el perfil genético a partir de sangre periférica obtenida de los jugadores, para correlacionar el tipo y grado de lesión en cada grupo racial. Según sus resultados, la frecuencia de aparición de los polimorfismos de un único nucleótido varía en las 3 poblaciones estudiadas. En cuanto a la población caucásica, se observó una relación significativa entre lesiones ligamentosas y ELN y entre lesión tendinosa y ELN e IGF2 ($p = 0,05$). En cuanto a la población hispánica, existía una relación significativa entre la lesión muscular y ELN e IGF2. Pruna et al demuestran el impacto de los polimorfismos de un único nucleótido en los patrones de lesiones de tejido musculoesquelético sin mecanismo de contacto, en una población de jugadores de fútbol profesional según la etnia.

Los resultados de la presente Tesis Doctoral abren la posibilidad de proyectos futuros para analizar el perfil genético, en función del puesto de trabajo desempeñado y el riesgo de desarrollar una lesión tendinosa en otra

localización anatómica diferente al manguito de los tendones rotadores del hombro.

Implicaciones patogénicas del gen GDF5

El factor de crecimiento/factor de diferenciación 5 es una proteína codificada por el gen GDF5, y miembro de la superfamilia de TGF-beta. Los miembros de esta familia son reguladores del crecimiento y la diferenciación celular en tejidos embrionarios y adultos. La proteína GDF5 está implicada de manera activa en el desarrollo, mantenimiento y reparación de huesos, cartílagos y tendones (51). Es una proteína estrechamente relacionada con la familia de la proteína morfogenética ósea (BMP). Las BMPs se descubrieron originalmente por su capacidad en inducir la formación de tejido óseo y cartílago. En la familia BMP se incluyen los llamados factores de crecimiento / diferenciación (*growth differentiation factor*, GDF). La proteína GDF5 es conocida también como la proteína morfogenética ósea BMP-14 (67). Las mutaciones en este gen están asociadas con displasia acromesomélica, tipo Hunter-Thompson; braquidactilia, tipo C, y condrodisplasia, tipo Grebe (52,53). De gran relevancia es el papel que la proteína sintetizada por el gen GDF5 desempeña en el desarrollo de la angiogénesis e innervación tisular y, por tanto, en la regeneración vascular y nerviosa (47). El efecto fibrogénico de la familia TGF-beta le hace un factor muy importante en los procesos de inflamación crónica. GDF5 se ha relacionado con la producción de citoquinas proinflamatorias (68). Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular, a menudo glicosiladas y sintetizadas por células de los sistemas inmunitarios o relacionados, siendo

elaboradas en respuesta a patógenos, sus productos u otras señales nocivas. Estas proteínas controlan la respuesta inflamatoria local y sistémica así como la reparación tisular. Parece lógico pensar que cualquier alteración en la producción y regulación de estas proteínas pueda influir en los procesos fisiológicos de reparación tendinosa. Por ello es muy importante estudiar los polimorfismos relacionados con el gen GDF5. En otro sentido, cada vez es mayor el número de estudios que avalan la predisposición genética a padecer hipertensión arterial y la relación con polimorfismos genéticos en genes que codifican factores de la superfamilia beta, como el TGF-beta 1 (69, 70,71). En esta Tesis doctoral se han encontrado diferencias significativas sobre la incidencia de hipertensión arterial, siendo mayor en el grupo de pacientes con patología en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Además, las diferencias son significativas en la distribución de los tres polimorfismos en GDF5 entre pacientes con HTA y aquellos que no son hipertensos. En pacientes con HTA es más frecuente el polimorfismo heterocigoto TC y en aquellos no hipertensos, el polimorfismo homocigoto TT. Hay diferencia con tendencia significativa en Col5A1, siendo mayor el polimorfismo homocigoto TT en pacientes hipertensos. En este estudio todos los pacientes con hipertensión arterial seguían tratamientos con beta-bloqueantes, sin asociación de diuréticos ni antagonistas del calcio. La HTA es un factor ligado a la edad y es conocido el efecto que algunos betabloqueantes tienen sobre el sistema musculoesquelético como mialgias o artralgias. Los resultados de este estudio, abren la posibilidad a estudios futuros, con muestras poblacionales más numerosas para valorar el factor individual o conjunto de determinados polimorfismos genéticos. El genotipo de factores predisponentes a padecer

hipertensión arterial resulta de especial relevancia en el ámbito de la Medicina Preventiva y Laboral, siendo la HTA una patología habitualmente monitorizada en los Servicios de Prevención.

Los cuadros patológicos que afectan al manguito de los tendones rotadores del hombro pueden abarcar pocas capas tendinosas o todas ellas. Se pueden encontrar desde simples distensiones leves hasta la ausencia o rotura total tendinosa. En los pacientes más jóvenes, incluso, las lesiones parciales pueden incluir un pequeño arrancamiento óseo de las fibras más profundas. El correcto tratamiento de las lesiones tendinosas y óseas está basado en la estabilidad mecánica, un adecuado aporte vascular y nervioso y un estímulo biológico. Conocer las alteraciones genéticas que interfieren negativamente en todo este proceso puede ayudar a establecer un genotipo específico que permita la futura prevención de estas lesiones. Desde el punto de vista clínico es deseable valorar en nuevos proyectos si la predisposición a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro asociada al genotipo homocigoto para CC en el gen GDF5 puede influir en el proceso de reparación y regeneración celular de una lesión de manguito tratada con un determinado procedimiento médico o quirúrgico. Ello permitiría optimizar el tratamiento elegido en fases iniciales así como la elaboración de protocolos de manejo precoz y diferente a los actuales.

Implicaciones laborales de las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro

Según el artículo 115 de la Ley General de la Seguridad Social (LGSS), para que un accidente tenga la consideración de laboral, son necesarias dos premisas. En primer lugar, que el trabajador/a sufra una lesión corporal, entendiendo por “lesión” todo daño o detrimento corporal causado por una herida, golpe o enfermedad. En segundo lugar, que el accidente sea con ocasión o por consecuencia del trabajo realizado, es decir, que exista una relación de causalidad directa entre trabajo y lesión. La lesión no constituye, por sí sola, accidente de trabajo. Las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro quedan incluidas en el listado de Enfermedades Profesionales (EEEP) (RD 1299/2006 de 10 de Noviembre de 2006) con el código 2D0101, y su etiología queda determinada por posturas forzadas y movimientos repetitivos en el trabajo que acaban produciendo fatiga e inflamación de las vainas tendinosas. Es decir, la condición microtraumática de repetición es necesaria para el diagnóstico. Un reciente estudio de Motta et al. (72) ha relacionado la presencia de polimorfismos de un nucleótido en 6 genes con las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Se trata de genes diferentes a los estudiados en la presente Tesis Doctoral, con implicaciones patogénicas distintas. En primer lugar, el gen DEFB1 cuyas alteraciones se han relacionado con patologías dérmicas como la dermatitis atópica y la ictiosis; el gen DENND2C relacionado con el sarcoma de Ewing; el gen ESRRB implicado en la reprogramación de células fibroblásticas embrionarias de ratones; el gen FGF3 cuyas mutaciones son responsables de la acondroplasia; el gen FGFR1 relacionado con el síndrome de Kallmann

(hipogonadismo hipogonadotrópico y anosmia) y el gen FGF10 relacionado con la fibrosis pulmonar (este artículo se ha publicado en Febrero de 2014, muy posterior al inicio de comenzar con esta Tesis Doctoral y con el registro de la misma). En el momento de diseñar esta Tesis, no existía ninguna referencia previa sobre la posible predisposición genética en lesiones del manguito de los rotadores del hombro en relación con el desempeño de diferentes actividades laborales. En esta Tesis Doctoral se analizan genes diferentes, más relacionados con patología osteo-muscular, con una técnica también diferente, y en el grupo control se han incluido otras lesiones tendinosas y ligamentosas.

La legislación establece como puestos de trabajo con riesgo para las lesiones en hombro los siguientes: usuarios de pantallas de visualización de datos (PVD), pintores, servicios de limpieza, conductores de vehículos, trabajadores de la construcción y servicios, peonajes, manipulador de pesos, fontanería y calefacción, carpinteros, mecánicos, archivos y almacenes, y trabajadores de la industria textil y confección. Este trabajo abre la posibilidad de realizar estudios futuros para evaluar la patología del manguito de los tendones rotadores como una lesión de etiología laboral o como una entidad tipificada en enfermedad común.

Aplicación de los resultados en la serie poblacional estudiada

La muestra elegida para el estudio tiene en consideración todas las actividades laborales que hemos comentado. De hecho, uno de los criterios de inclusión en la muestra fue desempeñar alguno de los puestos de trabajo descritos, tanto en los casos como en los controles. En el estudio, la información sobre el tipo de actividad laboral se recogió de la historia laboral de cada paciente, donde queda registrado el tipo de trabajo y actividad que desempeña (evaluación de

riesgos asociado a cada puesto de trabajo), así como la empresa a la que pertenece. Este último dato se ha obviado en cumplimiento de la Ley Orgánica de Protección de Datos 15/1999.

En este estudio se encuentra una diferencia significativa en relación al tipo de actividad laboral desempeñada. Aquellos pacientes que realizan esfuerzos físicos intensos con trabajos de riesgo para los miembros superiores tienen una mayor probabilidad de sufrir cualquier tipo de lesión de hombro. Duckworth y Harryman (73) han demostrado una gran variabilidad en las manifestaciones clínicas de las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Se incluyen problemas como la rigidez de hombro, pérdida de fuerza, inestabilidad y crepitación por abrasión. La omalgia o dolor de hombro es el principal síntoma de consulta y ésta puede deberse a cuadros etiológicamente muy diferentes.

En nuestra Institución, los pacientes que acuden a la Unidad de Hombro han sido ya diagnosticados de lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro por los facultativos de Centros Asistenciales periféricos donde el paciente es atendido inicialmente. Por ello muchos pacientes acuden a la consulta hospitalaria del especialista en patología de hombro con pruebas diagnósticas ya realizadas previamente. Todos los pacientes diagnosticados de patología de manguito de los tendones rotadores del hombro tienen radiografías del hombro afectado, en tres proyecciones : anteroposterior, lateral y out-let. La imagen radiológica mayoritaria en los pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, fue una imagen radiológica normal 41.7% (43 casos), el 21.4% (22 casos) presentaban imágenes de calcificaciones en regiones de características intratendinosas. En

38 casos (36.9%), se apreciaba imagen de pinzamiento subacromial. Ningún paciente del grupo control, aportaba Rx de hombro.

La radiografía simple resulta de escasa utilidad para evaluar el manguito rotador. En individuos jóvenes se pueden identificar pequeños fragmentos desprendidos del troquíter. La enfermedad crónica del manguito se acompaña a veces de esclerosis de la cara inferior del acromion, de espolones por tracción y de depósitos cálcicos. En ninguno de los pacientes del grupo control se realizó un estudio radiográfico simple, resonancia magnética o ecografía de hombro. De todos los pacientes con patología de manguito, 101 tenían imágenes de resonancia magnética y en todos ellos se apreciaban imágenes compatibles con rotura. Sólo dos casos fueron diagnosticados de lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro, sin imágenes de resonancia magnética nuclear y una exploración clínica compatible con la lesión. Estos dos pacientes siguieron tratamiento quirúrgico artroscópico con comprobación in situ de rotura masiva del manguito de los tendones rotadores del hombro. En ambos se procedió a la reparación quirúrgica. Quedaron incluidos en el estudio dado que la valoración clínica se había llevado a cabo previa a la cirugía. La toma de muestra se llevó a cabo en el post-operatorio, antes de recibir el alta hospitalaria.

La ecografía es una prueba diagnóstica por imagen que sólo figura en el grupo de casos, en pacientes con rotura del manguito de los tendones rotadores del hombro. Entre ellos, sólo se realizó en 100 pacientes.

La imagen ecográfica mayoritaria corresponde a rotura tendinosa en el 56% de los casos. El resto se distribuye entre pacientes con imágenes de derrame, el 25% y calcificaciones intratendinosas, el 19%. Los tres pacientes

diagnosticados de lesión quedaron incluidos en el estudio siguiendo el mismo procedimiento de aquellos pacientes sin RMN.

Así, de 103 pacientes diagnosticados de lesión en el manguito de los tendones rotadores, 5 fueron diagnosticados sin ningún tipo de prueba diagnóstica y sólo con exploración clínica positiva para la lesión. El motivo por el cual no se procedió a realizar ninguna prueba diagnóstica, no se debe a criterio médico sino a condiciones económicas y laborales propias de una Mútua de Accidentes de Trabajo.

En este estudio se han tipificado e incluido únicamente aquellos pacientes con una rotura completa del manguito de los tendones rotadores del hombro. Con los resultados obtenidos, se abre la posibilidad de futuros estudios para correlacionar las variaciones genéticas con el grado de lesión identificado.

Los tendones del manguito rotador del hombro son enormemente resistentes, pero en su inserción se produce una transición histológica y mecánica hasta el hueso de la tuberosidad. A menudo se hace referencia, a este respecto, a las históricas investigaciones de McMaster (74). Llegó a demostrar que las cargas que eran aplicadas sobre tendones de Aquiles normales de conejos podían provocar roturas en la unión músculo-tendinosa, en la inserción en el hueso, en el punto de origen muscular o en el propio hueso, pero nunca en el parénquima tendinoso. La mayor parte de los autores coinciden en que la potencia tendinosa disminuye con la edad. Hollis y cols. (75) lo demostraron en el ligamento cruzado anterior de la rodilla. Uhthoff y Sarkar (76) concluyeron que “el envejecimiento es el factor contribuyente más importante en la patogenia de los desgarros de los tendones del manguito”. Dado que el envejecimiento

tisular es un factor asociado a la edad, es importante el estudio de la patogenia de estas lesiones en pacientes jóvenes. En la serie aquí descrita todos los pacientes son jóvenes, en edad laboral, con una edad media de 45 años.

La anatomía microscópica del tejido tendinoso en lesiones del manguito identifica alteraciones en la organización de las fibras de colágeno y los haces de las mismas. Las células de tejido conectivo quedan distorsionadas y pierden su paralelismo (77), apreciándose aumento de tejido fibrovascular con alto contenido en colágeno tipo III, en lugar del predominio habitual de fibras de colágeno tipo II. Es lógico pensar que una alteración en la síntesis de los diferentes tipos de colágenos puede constituir un factor de riesgo para las lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro, más aún si tenemos en cuenta los estudios de Fukuda y col. (78) que corroboraron los patrones de desgarros intratendinosos, y señalaron que las lesiones tienden a no regenerarse ni curar. La fase proliferativa de toda regeneración tendinosa corre a cargo de macrófagos y fibroblastos, capaces de sintetizar colágeno tipo III, que poco a poco va remplazándose por colágeno tipo I. En esta Tesis Doctoral se procede al estudio de los genes más importantes en la producción de este tipo de colágeno. De ahí la importancia de los resultados obtenidos.

Aplicación de los resultados en relación a los métodos diagnósticos habituales en patología del manguito de los tendones rotadores del hombro

Disponemos de diferentes métodos para el estudio por imagen del manguito de los rotadores, cada uno de los cuales aporta información y al mismo tiempo conlleva gastos en la evaluación total del paciente; es necesario el control del gasto económico realizando sólo aquellos estudios cuyos resultados vayan a modificar el tratamiento del paciente. En este estudio, la prueba diagnóstica más ampliamente utilizada es la resonancia magnética nuclear; también la más costosa, lo que nos anima a reflexionar desde la perspectiva coste/eficacia. Por RMN se pueden obtener datos de tendones y músculos. Seeger y Kneeland, en 1998 (79,80), aportaron información inicial sobre el empleo de la resonancia para explorar el manguito; sin embargo, no corroboraron la sensibilidad ni la selectividad de dicho método. Iannotti y cols. (81) describieron la sensibilidad, la especificidad y el valor pronóstico de la RMN en diversos cuadros clínicos. Se comprobó una sensibilidad del 89% y una especificidad del 100% en la detección de desgarros del manguito de los rotadores en hombros no sometidos a cirugía previa. Todos los desgarros que se pasaron por alto eran de grosor parcial. La RMN de los hombros después de la reparación demostró una sensibilidad del 91% para diagnosticar los desgarros recurrentes.

En este estudio, independientemente de las pruebas diagnósticas aportadas, se lleva a cabo una valoración clínica completa a través de la puntuación de Constant abreviada, en la que se excluye la valoración de la fuerza. Existe un sinnúmero de instrumentos de valoración en las afecciones del hombro. Ya en

1994 se creó el cuestionario ASES (Standardized Assessment Form Shoulder Score Index), y desde entonces son muchos los autores que han intentado demostrar la fiabilidad y validez de unos frente a otros. Un instrumento específico para la valoración del hombro es el test de Constant-Murley. Al igual que otros test, presenta ventajas e inconvenientes, el principal de los cuales es la falta de estandarización del parámetro de fuerza. Su uso es muy discutido en los casos de inestabilidad (82). Sin embargo serían necesarios estudios futuros para validación de sus propiedades psicométricas (83). La puntuación completa de Constant es un sistema de 100 puntos, de los cuales 35 se obtienen de la autovaloración del paciente del dolor y la función y los restantes 65 puntos se obtienen de la exploración del arco de movilidad y la fuerza. Othman y Taylor (84) demostraron que los resultados en la valoración de la fuerza contienen una prueba no estandarizada, y recomiendan la puntuación abreviada de Constant, sobre un sistema de 75 puntos, descrita por Patel en 1999 (85). En las series de este trabajo los valores en todas las variables son menores en los pacientes con lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro; por el contrario, todos los pacientes del grupo control presentan un valor total en la escala de Constant de 75 puntos. Estos pacientes de la serie control tienen ausencia completa de dolor, sin dificultad en las actividades de la vida diaria y movilidad completa. En este estudio y en una población muy concreta, con la escala utilizada estamos valorando los síntomas que nos permiten diagnosticar una lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Sin embargo, sería necesario contar con estudios comparativos para poder demostrar la superioridad de un instrumento de evaluación respecto de otros.

En relación al antecedente traumático de la lesión, el 43% de los pacientes con lesión en el manguito de los rotadores refiere no haber sufrido traumatismo previo y considera la aparición del dolor de manera espontánea. A este grupo de pacientes le seguían en frecuencia, 23% y 29% respectivamente, los que relacionan la aparición de dolor de hombro con esfuerzos físicos cogiendo peso, y aquellos que realizan esfuerzos físicos con tracción brusca sobre miembros superiores.

Debemos hacer notar que ninguno de los pacientes incluidos en el estudio fue atendido por Contingencias Comunes, es decir, todas aquellas situaciones en las que la Incapacidad Temporal se produce por causa de un accidente o enfermedad no laboral y que recibe asistencia sanitaria por parte del Sistema Público de Salud. Con ello se minimiza el sesgo que supondría incluir pacientes de mayor edad con patología claramente degenerativa. En el grupo control, el 31% de los pacientes presentaban roturas del ligamento cruzado anterior de la rodilla. Sólo se han incluido aquellos con una clara relación traumática previa, tales como torsiones bruscas en rodilla y golpes directos. Todos los pacientes con rotura de ligamento cruzado anterior incluidos en el estudio fueron sometidos a intervención quirúrgica y en el procedimiento artroscópico se descartó, in situ, la imagen degenerativa del ligamento. En los pacientes con roturas meniscales se siguió el mismo procedimiento, escogiendo aquellos pacientes intervenidos de menisectomía sin signos artroscópicos degenerativos. El motivo de incluir pacientes con lesiones meniscales en el grupo control, responde a las características histológicas del tejido meniscal, compuesto fundamentalmente por colágeno tipo I (64). Un paciente presentaba rotura de tendón distal de bíceps tras un claro traumatismo agudo. Todas las

roturas de tendones extensores y flexores de dedos de la mano, incluidas como controles, asociaban algún proceso traumático tales como fracturas de falanges, fracturas de metacarpianos o fracturas de radio distal. En los pacientes con epicondilitis y epitrocleítis los cuadros clínicos habían sido catalogados como enfermedades profesionales. En un paciente con luxación traumática de codo y en otros dos con fracturas diafisarias de húmero la valoración clínica y toma de muestra se llevó a cabo tras la resolución completa de sus procesos patológicos, habiendo

recibido ya el alta laboral por curación. No existe, por tanto, ningún factor que pudiera producir sintomatología dolorosa en el hombro.

La evolución biológica de una población consiste en el cambio de sus características hereditarias a través de las generaciones, ya sea de manera aleatoria o no. La selección natural actúa con mayor intensidad sobre niveles jerárquicos inferiores (genes, células y, sobre todo, individuos) y los cambios evolutivos son más visibles en los niveles superiores (poblaciones y especies).

El estudio de las frecuencias observadas y esperadas en los diferentes alelos de los genes Col1A1, GDF5 y Col5A1 se ha llevado a cabo a través del cálculo del equilibrio Hardy-Weinberg, que en 1908 fue descrito como: “ En una población panmíctica (es decir, donde los individuos se aparean al azar) de gran tamaño y donde todos los individuos son igualmente viables y fecundos, el proceso de la herencia, por sí mismo, no cambia las frecuencias alélicas ni genotípicas de un determinado locus “ (86,87). Así, la herencia mendeliana por sí misma no engendra un cambio evolutivo. La importancia del principio de Hardy-Weinberg radica en que las condiciones que lo definen son puntos de partida muy útiles en el estudio de los mecanismos de evolución y el flujo de

genes. En esta Tesis Doctoral se han elegido como variables de agrupación, aquellas que pudieran condicionar un cambio en las frecuencias alélicas. La diversidad interracial, el sexo y los antecedentes patológicos familiares son variables habituales en los estudios genéticos poblacionales. En este estudio se ha considerado también como variable de agrupación el tipo de actividad laboral desempeñada. La estructura genética de una población resulta de la combinación de su composición genómica y las relaciones interindividuales entre sí. Sin duda, la actividad profesional es una de estas relaciones interindividuales. Los avances tecnológicos y científicos de los últimos años, han incrementado el interés sobre el papel que la genética puede jugar en las enfermedades profesionales. Se han estudiado los cambios genéticos producidos como consecuencia de la exposición a factores ambientales, tales como riesgos biológicos o radiaciones ionizantes. Sin embargo, queda abierta la posibilidad a la valoración de conocer si el tipo de actividad profesional desempeñada, sin exposición a factores de riesgo, puede predisponer a algún cambio genómico. Los factores de riesgo laborales deben condicionar estrategias de prevención e intervención en enfermedades profesionales y en definitiva, la reducción de la morbilidad y mortalidad por accidentes de trabajo. El reto es saber identificar y aplicar la información genética para mejorar la seguridad y salud de los trabajadores, sin que ello suponga un condicionamiento o factor de exclusión laboral. Los avances van llegando de la mano de la salud cardiovascular (88).

La distribución de los polimorfismos de un único nucleótido en el gen GDF5 rs143383 es muy poco conocida entre la población general (89). Los últimos

datos los encontramos en un meta-análisis de Pan (90) sobre 23.995 sujetos de diferentes poblaciones y establece la incidencia del genotipo CC en el 0.117% de los individuos europeos, en el 0.047% entre la raza asiática y en el 1% de individuos en países del oeste africano. Pan concluye que el alelo C y el polimorfismo CC para el gen GDF5 se comporta como un factor de protección frente al riesgo de sufrir osteoartritis de rodilla en diferentes poblaciones.

En la población de esta Tesis Doctoral existen diferencias significativas en la distribución de los tres polimorfismos de GDF5 en las dos razas (blanca y negra). Los heterocigotos TC predominan entre los blancos y los homocigotos TT entre los negros. Esta diferencia vendría determinada por la diferente distribución de razas en la población total. Casi el 90% de todos los pacientes estudiados son blancos y sólo el 10% son de raza negra. Serían necesarios estudios poblacionales más amplios para evaluar la incidencia real de cada uno de los polimorfismos. Los tres genes se mantienen en equilibrio en relación a ambos sexos y al tipo de actividad laboral desempeñada. Probablemente el bajo tamaño muestral no permite detectar diferencias significativas.

Los resultados de este trabajo sugieren que, estadísticamente, ser homocigoto CC en el gen GDF5 es un factor de riesgo, en una población concreta, para sufrir lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Podthumus y Collins (50) demostraron que en personas con este genotipo la probabilidad de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles es la misma que la de la población general. No existen estudios en el manguito de los tendones rotadores del hombro con respecto al genotipo mencionado. Hay que tener en cuenta que, a pesar, de la estructura histológica común a todos los tejidos tendinosos, no siempre ocurre la misma adaptación músculo - tendón – hueso como unidad

básica de movimiento. Un único tendón, como es el de Aquiles, logra focalizar la acción de varios vientres musculares (tríceps sural) con el objetivo de ejercer tracción sobre un solo hueso (calcáneo), mientras que un solo músculo (tibial posterior) puede actuar sobre varios tendones que, a su vez, anclan en distintas estructuras óseas.

El tendón de Aquiles tiene función de unión y estabilización en la flexión planta del pie. El manguito de los tendones rotadores del hombro, en cambio, permite un amplio rango de movimiento que incluye pequeñas traslaciones. La causa exacta de la patología tendinosa, en general, asocia lesiones intrínsecas del propio tendón, sobrecargas e insuficiencias vasculares así como traumatismos. La comparación entre la etiología de lesiones de tendones con perfiles biomecánicos diferentes es muy difícil de establecer y la especificidad de una predisposición genotípica concreta puede quedar sesgada en un contexto multifactorial. También Podthumus y Collins demostraron que los individuos homocigotos TT para GDF5 tienen 2 veces más riesgo de sufrir lesiones en el tendón de Aquiles que el resto de la población. En la serie aquí presentada ser homocigoto para TT en GDF5 no supone mayor riesgo de lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro.

El conocimiento del DNA humano ha supuesto un cambio radical en el diagnóstico de enfermedades humanas. En el campo de la Medicina Preventiva este conocimiento ha optimizado y acelerado la asociación de variantes genéticas al riesgo de padecer determinadas enfermedades. En la actualidad existen Biochips que permiten analizar simultáneamente múltiples variables genéticas asociadas a patologías humanas. El análisis genético se realiza a partir de la información contenida en el DNA extraído de una muestra de saliva.

En este estudio el DNA se extrae de una muestra de sangre. Los beneficios en la obtención de una muestra de sangre sobre las muestras obtenidas de otros fluidos biológicos como la saliva son técnicos y económicos. Con los kits de saliva actuales se utiliza toda la muestra para la extracción del DNA, y el DNA sobrante después de realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) debe ser almacenado a -20°C . Sin embargo, el uso de muestras de sangre depositadas en tarjetas especiales permite aislar el DNA de sólo uno de los círculos de la tarjeta, mientras el resto de la tarjeta (con más círculos con sangre) se puede almacenar a temperatura ambiente durante años. Si existiese un problema en la extracción de DNA, con el kit de saliva no es posible repetir la extracción, mientras que al tener varias muestras de sangre en la tarjeta, es muy factible repetir la extracción de DNA. Por otro lado, el contenido bacteriano de la cavidad oral es muy elevado y es necesario enjuagar muy bien la boca antes de la toma de muestra, además de que no se debe comer ni beber nada al menos 30 minutos antes de empezar con la toma de muestra.

Este estudio demuestra, en una población concreta y limitada, que ser homocigoto para CC en el gen GDF5 puede ser un factor de riesgo asociado a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro. Se necesitan estudios futuros con poblaciones más numerosas. Se ha de tener en cuenta, sin embargo, que el diseño casos y controles no puede confirmarlo pero sí señala y orienta con mucha exactitud.

Desde el punto de vista clínico es deseable valorar en nuevos proyectos si la predisposición a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores, asociada al genotipo homocigoto para CC en el gen GDF5, puede influir en el

proceso de reparación y regeneración celular tras haber sufrido una rotura de manguito.

No toda rotura del manguito de los tendones rotadores del hombro debe ser tratada de manera quirúrgica. En la mayor parte de los casos el tratamiento conservador suele ser suficiente, aplicando reposo, analgésicos y fisioterapia. Casi el 50% de los pacientes consiguen una mejoría significativa en relación al dolor y la movilidad (91,92). La inyección subacromial de corticoides puede resultar perjudicial pues los corticoides inhiben la síntesis de colágeno y producen atrofia tendinosa con disminución de la capacidad intrínseca de reparación del tendón lesionado (93). La predisposición genética a desarrollar estas lesiones puede suponer un criterio de exclusión para realizar infiltraciones. La cirugía suele indicarse en roturas de manguito sin respuesta al tratamiento conservador, manteniendo dolor y limitación funcional. Los resultados son peores en roturas de gran tamaño, si la porción larga del bíceps está rota, y en mayores de 65 años, fumadores o diabéticos (94,95).

La reparación artroscópica ha demostrado resultados similares a la reparación abierta (96, 97), pero se observa una disminución en el dolor postoperatorio, en el sangrado, una menor rigidez articular y una menor estancia hospitalaria. Sin embargo, la incidencia de recidivas, cuando la rotura inicial es completa y mayor de 3 cm, resulta superior en cirugías artroscópicas (98). Sigue siendo muy controvertida la comparación entre el abordaje por vía artroscópica y la técnica *miniopen*. La artroplastia con una prótesis invertida es una opción a valorar en roturas masivas muy evolucionadas a la artropatía por ascenso de la cabeza humeral (99).

Si un determinado perfil genético demuestra una clara predisposición a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores, podemos evaluar el pronóstico de desempeñar determinados puestos de trabajo, así como optar por tratamientos más agresivos y con eficacia demostrada desde etapas precoces tras el diagnóstico de la lesión. Sería deseable la elaboración futura de Protocolos de Prevención y Tratamiento, con el objetivo de modificar la evolución de una lesión en el manguito de los tendones rotadores del hombro hacia estadios iniciales benignos y favorables.

6.CONCLUSIONES

Las conclusiones de la presente Tesis Doctoral fueron:

1. Tras el estudio de polimorfismos de un único nucleótido en los genes Col1A1, Col5A1 y GDF5 en pacientes diagnosticados de lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro y atendidos en una Mutua de Accidentes Laborales, podemos afirmar que, estadísticamente, ser homocigoto CC en el gen GDF5 es un factor de riesgo para sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro ($p=0.04$).
2. Tras el estudio de variables clínicas y epidemiológicas podemos afirmar que, para la población en estudio:
 - a. La edad es un factor fuertemente asociado a sufrir lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro en la muestra analizada ($p<0.001$)
 - b. Desarrollar un tipo de actividad laboral con esfuerzos intensos que implican a los miembros superiores se asocia al riesgo de padecer lesiones en el manguito de los tendones rotadores del hombro en la muestra concreta analizada ($p=0.002$)
 - c. Las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro estudiadas en esta muestra no se asocian a un antecedente traumático previo ($p= 0.0001$)
 - d. La hipertensión arterial es un factor vinculado a las lesiones del manguito de los tendones rotadores del hombro en la población estudiada ($p<0.04$)

3. La comparación del perfil genético entre 103 pacientes diagnosticados de lesión en el manguito rotador del hombro y el perfil genético de 104 pacientes sin lesión en el hombro demuestra, estadísticamente, que ser homocigoto CC para el gen GDF5 es un factor de riesgo para sufrir lesiones en el manguito rotador del hombro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smith JG. Pathological appearances of seven cases of injury of the shoulder joint with remarks. *London Med Gaz.* 1834 ; 14: 14 - 280.
2. Rockwood/ Masten, Hombro, 2da edition 1998, Vol. 1, pp: 751-3 México Df. 1998, McGraw-Hill.
- 3.. E. A. Codman. The Shoulder Reprint of the 1934 edition. *J Bone Joint Surg Br* 1967; 49 : 1 - 206.
4. E. Lawrence Keyes. Anatomical Observations on Senile Changes in the Shoulder. *J Bone Joint Surg Am*, 1935; 17: 953-960.
5. Olsson O. Degenerative changes of the shoulder joint and their connection with shoulder pain; a morphological and clinical investigation with special attention to the cuff and biceps tendon. *Acta Chir Scand Suppl.* 1953 ; 181: 1-130.
6. Moseley HF, Goldie I. The arterial pattern of the rotator cuff of the shoulder *J Bone Joint Surg Br.* 1963; 45: 780 - 789.
7. Rathbun JB, Macnab I. The microvascular pattern of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br* 1970; 52 (3): 540 -553.

8. Neer CS. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am.* 1972; 54: 41– 50.
9. Bigliani LU Norris TR and Fischer J: The relationship between the unfused acromial epiphysis and subacromial impingement lesions. *Orthop Trans* 1983; 7:138-147
10. Schwellnus MP, Collins M. Tendon and ligament injuries: the genetic component. *Br J Sports Med* 2007; 41: 241-246.
11. Inman VT, Saunders JB, and Abbott LC: Observations on the function of the shoulder joint. *J Bone Joint Surg.*1944; 26: 1- 30.
12. Burkhart SS, Esch JC, Jolson RS. The rotator crescent and rotator cable: an anatomic description of the shoulder's "suspension bridge". *Arthroscopy.* 1993; 9(6): 611- 616. Erratum in: *Arthroscopy* 1994; 10(2):239.
13. Clark JM, Harryman DT. Tendons, ligaments and capsule of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am* 1992; 74-A : 713-725.
14. Brooks CH, Revell WJ, Heatley FW. A quantitative histological study of the vascularity of the rotator cuff tendon. *J Bone Joint Surg Br* 1992; 74-B: 151-153.

15. De Matsen FA III, Lippitt SB : Shoulder Surgery : Principles and Procedures. Filadelfia: WB Saunders, 2004, p270.
16. Codman EA: The Shoulder. Rupture of the Supraspinatus Tendon and Other Lesions in or about the Subacromial Bursa.1984
17. Yamanaka K, Fukuda H, Hamada K. Incomplete thickness tears of the rotator cuff. *Orthop Traumatol Surg* (Tokyo) 1983; 26: 7 - 13.
18. Chard MD, Hazleman R, Hazleman BL, et al: Shoulder disorders in the elderly: A community survey. *Arthritis Rheum* 1991; 34(6): 766 - 769.
19. Petterson G: Rupture of the tendon aponeurosis of the shoulder joint in antero-inferior dislocation. *Acta Chir Scand* 1942 ;(Suppl) 77 : 1 - 187.
20. Milgrom C, Schaffler M, Gilbert S, et al: Rotator cuff changes in asymptomatic adults. The effect of age, hand dominance and gender. *J Bone Joint Surg Br* 1995; 77(2):296-298.
21. Luopajarvi T, Kuorinka I, Virolainen M, et al: Prevalence of tenosynovitis and other injuries of the upper extremities in repetitive work. *Scand J Work Environ Health*. 1979; 3 : 48 - 55.

- 22.** Richardson AB, Jobe FW, Collins HR: The shoulder in competitive swimming. *Am J Sports Med.* 1980; 8 (3): 159-163.
- 23.** Choo A, Sobol G, Maltenfort M, Getz C, Abboud J. Prevalence of rotator cuff tears in operative proximal humerus fractures. *Orthopedics* 2014; 37(11):968-974
- 24.** Boehm TD, Rolf O, Martetschlaeger F et. al: Rotator cuff tears associated with os acromiale. *Acta Orthop* 2005; 76(2): 241-244.
- 25.** Rees JD, Wilson AM, Wolman RL. Current concepts in the management of tendon disorders. *Rheumatology* 2006; 45: 508-521.
- 26.** Samilson RL, Binder WF: Symptomatic full thickness tears of the rotator cuff. An analysis of 292 shoulders in 276 patients . *Orthop Clin North Am* 1975; 6(2):449-466
- 27.** Nicholson GP, Goodman DA, Flatow EL, et al.: The acromion: Morphologic condition and age-related changes. A study of 420 scapulas. *J Shoulder Elbow Surg* 1966 ; 5: 1 - 11.
- 28.** Liberson F: Os acromiale - a contested anomaly. *J Bone Joint Surg* 1937; 19: 983-689.

- 29.** Neer CS, Poppen NK: Supraespinatus outlet. *Orthop Transactions* 1987; 11:234
- 30.** Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, et al: The relationship of acromial architecture to rotator cuff disease. *Clin Sports Med* 1991; 10:823-838.
- 31.** Charousset C, Bellaiche L, Durathon LD et al :Accuracy of CT arthrography in the assesment of tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br.* 2004; 87(6):1305-1311.
- 32.** Wolf BR. Rotator cuff disease is fascinating: Commentary on an article by Robert D. Russell, MD, et al.: "Structural integrity after rotator cuff repair does not correlate with patient function and pain. A meta-analysis". *J Bone Joint Surg Am.* 2014 19 (4) ; 96.
- 33.** Liem D, Lengers N, Dedy N, Poetzi W, Steinbeck J, Marquardt B. Arthroscopic desbridement of massive irreparable rotator cuff tears. *Arthroscopy.* 2008; 24 : 743 - 748.
- 34.** Keener Jay D., Galatz Leesa M. et al. Rehabilitation following arthroscopic rotator cuff repair. A prospective randomized trial of immobilization compared with early motion. *J Bone Joint Surg* 2014; 96-A: 11-19.

- 35.** Nobuhara K, Hata Y, Komai M : Surgical procedure and results of repair of massive tears of the rotator cuff. *Clin Orthop Relat*, 1994 (304) :54-59.
- 36.** DeOrio JK, Cofield RH. Results of a second attempt at surgical repair of a failed initial rotator cuff repair. *J Bone Joint Surg Am* 1984; 66: 563-567
- 37.** Anley CM, Chan SK, Snow M. Arthroscopic treatment options for irreparable rotator cuff tears of the shoulder. *World J Orthop*. 2014.18;(5):557-565
- 38.** Cuff D, Pupello D, Virani N, Levy J, Frankle M. Reverse shoulder arthroplasty for the treatment of rotator cuff deficiency. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90-A: 1244 -1251.
- 39.** Aurora A, McCarron J, Iannotti JP, Derwin K. Commercially available extracellular matrix materials for rotator cuff repairs: State of the art and future trends. *J Shoulder Elbow Surg* 2007; 16 (Suppl 5):171-178.
- 40.** R.M.Schultz, M.N. Liebman: Proteínas: Composition and structure. En: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. Ed. T.M.Devlin, 1992. 26 - 77.
- 41.** KA. Piez: Collagen types: a review. *Development and Diseases of Cartilage and Bone Matrix*. 1987. A.Riss Ed. 1-19.

- 42.** Saiki R. K. 1990. Amplification of genomic DNA. pp. 13-20. In "PCR protocols", Innis Ma (eds). Academic Press, New York.
- 43.** Hoyer-Kuhn H, Semler O, Garbes L, Zimmermann K, Becker J, Wollnik B, Schoenau E, Netzer C.J. A Non-Classical IFITM5 Mutation Located in the Coding Region Causes Severe Osteogenesis Imperfecta with Prenatal Onset. *Bone Miner Res.* 2013 ; 30.
- 44.** Kitaoka T, Miyoshi Y, Namba N, Miura K, Kubota T, Ohata Y, Fujiwara M, Takagi M, Hasegawa T, Jüppner H, Ozono K. Two Japanese familial cases of Caffey disease with and without the common COL1A1 mutation and normal bone density, and review of the literature. *Eur J Pediatr.* 2014 ; 173(6):799-804.
- 45.** Posthumus M, September AV, Keegan M, et al. Genetic risk factors for anterior cruciate ligament ruptures: COL1A1 gene variant. *Br J Sports Med* 2009; 43: 352-356.
- 46.** Masoodi TA, Alsaif MA, Al Shammari SA, Alhamdan AA. Evaluation and identification of damaged single nucleotide polymorphisms in COL1A1 gene involved in osteoporosis. *Arch Med Sci.* 2013; 9(5): 899-905.

- 47.** Martin JJ, Hausser I, Lyrer P, Busse O, Schwarz R, Schneider R, Brandt T, Kloss M, Schwaninger M, Engelter S, Grond-Ginsbach C. Familial cervical artery dissections: clinical, morphologic, and genetic studies. *Stroke*. 2006; 37(12):2924-2929.
- 48.** Posthumus M, September AV, O'Cuinneagain D, et al. The COL5A1 gene is associated with increases risk of anterior cruciate ligament ruptures in female participants. *Am J Sport Med* 2009; 37: 2234-2240.
- 49.** September AV, Cook J, Handley CJ, et al. Variants within the COL5A1 gene are associated with Achilles tendinopathy in two populations. *Br J Sports Med* 2009; 43: 357-365.
- 50.** . Posthumus M, Collins M, Cook J, et al. Components of the transforming growth factor-beta family and the pathogenesis of human Achilles tendon pathology-a genetic association study. *Rheumatology* 2010; 49: 2090-2097.
- 51.** Jin L, Li X.. Growth differentiation factor 5 regulation in bone regeneration. *Curr Pharm Des*. 2013; 19 : 3364 -3373. Review.
- 52.** Seo SH, Park MJ, Kim SH, Kim OH, Park S, Cho SI, Park SS, Seong MW. Identification of a GDF5 mutation in a Korean patient with brachydactyly type C without foot involvement. *Ann Lab Med*. 2013; 33(2):150-152.

- 53.** Farooq M, Nakai H, Fujimoto A, Fujikawa H, Kjaer KW, Baig SM, Shimomura Y. Characterization of a novel missense mutation in the prodomain of GDF5, which underlies brachydactyly type C and mild Grebe type chondrodysplasia in a large Pakistani family. *Hum Genet.* 2013; 132(11): 1253-1264.
- 54.** Swiontkowski M, Iannotti JP, Boudas JH, et al.: Intraoperative assessment of rotator cuff vascularity using laser Doppler flowmetry. In Post M, Morrey BF, Hawkins RJ (eds): *Surgery of the Shoulder*. St. Louis: Mosby-Year Book, 1990:208-212.
- 55.** Brewer BJ. Aging of the rotator cuff. *Am J Sports Med.* 1979; 7(2):102-110
- 56.** Neer CS II: Unfused acromial epiphysis in impingement and cuff tears. Presented at the 45th Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, Dallas, 1978.
- 57.** Lohr JF, Uhthoff HK: The microvascular pattern of the supraspinatus tendón. *Clin Orth Relat Res* 1990(254); 254:35-38.
- 58.** Itoi E, Berglund LJ, Grabowski JJ, et al: Tensile properties of the supraspinatus tendón. *J Orthop Res* 1995; 13:578-584.

- 59.** Gladstone JN, Bishop JY, Lo IK, Flatow EL. Fatty infiltration and atrophy of the rotator cuff do not improve after rotator cuff repair and correlate with poor functional outcome. *Am J Sports Med* 2007; 35:719-728.
- 60.** Woodside JD, Gutowski M, Fall L, James PE, McEneny J, Young IS, Ogoh S, Bailey DM. Systemic oxidative-nitrosative-inflammatory stress during acute exercise in hypoxia; implications for microvascular oxygenation and aerobic capacity. *Exp Physiol*. 2014; 99 (12):1648-1662.
- 61.** Morikawa D, Itoigawa Y, Nojiri H, Sano H, Itoi E, Saijo Y, Kaneko K, Shimizu T. Contribution of oxidative stress to the degeneration of rotator cuff entheses. *J Shoulder Elbow Surg*. 2014; 23(5):628-635.
- 62.** Leeuwenburg C, Fiebig R, Chndwaney R, Ji LL. Aging and exercise training in skeletal muscle : responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol* 1994; 267:439 - 445.
- 63.** Pruna R, Ribas J, Montoro JB, A.R. The impact of single nucleotide polymorphisms on patterns of non-contact musculoskeletal soft tissue injuries in a football player population according to ethnicity. *Med Clin(Barc)* 2013;13:735-737.

- 64.** Dale WC and BAe E. Fiber –buckling in composite systems-model for ultrastructure of uncalcified collagen tissues. *Journal of Materials Science*; 9:369-382.
- 65.** Wiggs JL, Pasquale LR. Expression and regulation of LOXL1 and elastin-related genes in eyes with exfoliation syndrome. *J Glaucoma*. 2014; 23(8):62-63
- 66.** Pascual-Lucas M, Viana da Silva S, Di Scala M, Garcia-Barroso C, González-Aseguinolaza G., Mulle C., Alberin CM, Cuadrado-Tejedor M., Garcia-Osta A. Insulin-like growth factor 2 reverses memory and synaptic deficits in APP transgenic mice. *EMBO Molecular Medicine*. 2014; 6(10):1246-1262.
- 67.** Murphy MK, Huey DJ, Hu JC, Athanasiou KA. TGF- β 1, GDF-5, and BMP-2 stimulation induces chondrogenesis in expanded human articular chondrocytes and marrow-derived stromal cells. *Stem Cells* 2014; (11): 6.
- 68.** Telfer JF, Brock JH. Proinflammatory cytokines increase iron uptake into human monocytes and synovial fibroblasts from patients with rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit*. 2004; 10(4):91-95.

69. Ríos-González BE, Ibarra-Cortés B, Ramírez-López G, Sánchez-Corona J, Magaña-Torres MT. Association of polymorphisms of genes involved in lipid metabolism with blood pressure and lipid values in mexican hypertensive individuals. *Dis Markers*. 2014.:150-358.

70. Yao C, Chen BH, Joehanes R, Otlu B, Zhang X, Liu C, Huan T, Tastan O, Cupples LA, Meigs JB, Fox CS, Freedman JE, Courchesne P, O'Donnell CJ, Munson PJ, Keles S, Levy D .Integromic Analysis of Genetic Variation and Gene Expression Identifies Networks for Cardiovascular Disease Phenotypes. *Circulation*. 2014. 22.

71. Nong Z, O'Neil C, Lei M, Gros R, Watson A, Rizkalla A, Mequanint K, Li S, Frontini MJ, Feng Q, Pickering JG. Type I collagen cleavage is essential for effective fibrotic repair after myocardial infarction. *Am J Pathol*. 2011;179 (5):2189-2198.

72. Motta Gda R, Amaral MV, Rezende E, Pitta R, Vieira TC, Duarte ME, Vieira AR, Casado PL. Evidence of genetic variations associated with rotator cuff disease.*J Shoulder Elbow Surg*. 2014; 23(2): 227-235.

73. Duckworth DT, Harryman, Antoniou J DT 2nd. Capsulolabral augmentation for the the management of posteroinferior instability of the shoulder.

J Bone Joint Surg Am. 2000; 82(9):1220-1230

74. McMaster PE: Tendon and muscle ruptures : Clinical and experimental studies on the causes and location of subcutaneous ruptures. *J Bone Joint Surg* 1933; 15:705-722.

75. Hollis JM, Lyon RM, Marcin JP, et.al: Effect of age and loading axis on the failure properties of the human ACL. In Transactions of 34th Annual Meeting. Orthopedic Research Society, Atlanta, 1988; p 83.

76. Uhthoff HK, Sarkar K. The effect of aging on the soft tissues of the shoulder. In Matsen FA III, Fu FH, Hawkins RJ (eds): The Shoulder. A Balance of Mobility and Stability. Rosemont, Ill: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1993; pp 269-278.

77. Riley GP, Harrall RL, Constant CR, et al. Tendon degeneration and chronic shoulder pain: changes in the collagen composition of the human rotator cuff tendons in rotator cuff tendinitis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53(6): 359-366.

78. Fukuda H, Hamada K, Nakajima T, et al. Pathology and pathogenesis of the intratendinous tearing of the rotator cuff viewed from bloc histologic sections. *Clin Orthop Relat Res* 1994; 304:60-67

- 79.** Seeger LL, Gold RH, Basset LW, et al: Shoulder impingement syndrome: MR findings in 53 shoulders. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150:343-347
- 80.** Kneeland JB, Middleton WD, Carnera GF. MR imaging of the shoulder. Diagnosis of rotator cuff tears. *AJR Am J Roentgenol* 1987; 149:333-337.
- 81.** Iannotti JP. Full thickness rotator cuff tears: Factors affecting surgical outcome. *J Am Acad Orthop Surg* 1994; 2: 87-95.
- 82.** Conboy VB, Morris RW, Kiss J, Carr J : An evaluation of the Constant-Murley shoulder assessment. *J Bone Joint Surg Br* 1996; 78: 229-232
- 83.** Walton MJ, Walton JC, Honorez LAM et al. A comparison of methods for shoulder strength assessment and analysis of Constant score change in patients aged over fifty years in the United Kingdom. *J Shoulder Elbow Surg* 2007; 16(3):285-289.
- 84.** Othman A, Taylor G. Is the constant score reliable in assessing patients with frozen shoulder? 60 shoulders scored 3 years after manipulation under anaesthesia. *Act Orthop Scand* 2004; 75(1): 114-116
- 85.** Patel V R, Singh D, Calvert P T, Bayley J I L. Arthroscopic subacromial decompression: Results and factors affecting outcome. *J Shoulder Elbow Surg* 1999; 8 (3): 231-7.

- 86.** Hardy, G. H. Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 1908; 28: 49 – 50.
- 87.** Weinberg, W. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg* 1908; 64: 368 – 382.
- 88.** .Kraus WE. Genetic approaches for the investigation of genes associated with coronary heart disease. *Am Heart J.* 2000;140:27-35.
- 89.** Liu J, Cai W, Zhang H, He C, Deng L. Rs143383 in the growth differentiation factor 5 (GDF5) gene significantly associated with osteoarthritis (OA), a comprehensive meta-analysis. *Int J Med Sci.* 2013;10(3):312-9.
- 90.** Pan F, Tian J, Winzeberg T, Ding C, Jones G. Association between GDF5 rs143383 polymorphism and knee osteoarthritis: an updated meta-analysis based on 23,995 subjects. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014; 15: 404-412
- 91.** Berry H, Fernandes L, Bloom B. Clinical study comparing acupuncture, physiotherapy, injection and oral anti-inflammatory therapy in shoulder cuff lesions. *Curr Med Res Opin* 1980; 7 (2) :121-126
- 92.** Rocks JA. Intrinsic shoulder pain síndrome. *Phys Ther* 1979;59 (2):153-159

- 93.** Wei AS, Callaci JJ, Juknelis D et al. The effect of corticosteroid on collagen expression in injured rotator cuff tendon. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88 (6):1131-1138.
- 94.** Mallon WJ, Misamore G, Snead DS, Denton P. The impact of preoperative smoking habits on the results of rotator cuff repair. *J Shoulder Elbow Surg.* 2004; 13(2):129-132.
- 95.** Chen AL, Shapiro JA, Ahn AK, Zuckerman JD, Cuomo F. Rotator cuff repair in patients with type I diabetes mellitus. *J Shoulder Elbow Surg.* 2003; 12(5):416-421
- 96.** Bishop J, Klepps S, Lo IK et. al. Cuff integrity after arthroscopy versus open rotator cuff repair. A prospective study. *J Shoulder Elbow Surg* 2006;15 (3): 290-299.
- 97.** Klepps S, Bishop J, Lin J, Cahon O, Strauss A, Hayes P, Flatow EL. Prospective evaluation of the effect of rotator cuff integrity on the outcome of open rotator cuff repairs. *Am J Sports Med.* 2004; 32 :1716 – 1722.
- 98.** Galatz LM, Ball CM, Teefey SA, et.al. The outcome and repair integrity of completely arthroscopically repaired large and massive rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am* 2004 86 (2):219-224.

- 99.** Berliner JL, Regalado-Magdos A, Ma CB, Feeley BT. Biomechanics of reverse total shoulder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg.* 2015; 24(1):150-160.